Serie III - Vol. I Fasc. 4 (Ottobre-Dicembre 1961)

RIVISTA
DI
PATOLOGIA VEGETALE

Diretta da E. BALDACCI, R. CIFERRI, C. A. GHILLINI e G. SCARAMUZZI
Redatta da R. CIFERRI

RIV. PAT. VEG.

TIPOGRAFIA DEL LIBRO - PAVIA

LINEE FISIOLOGICHE DELLA *TILLETIA FOETIDA* (WALLR.) LIRO IN ITALIA (1)

C. S. HOLTON (2)

INTRODUZIONE

Sebbene molti aspetti del « carbone puzzolente del grano » sono stati studiati in Italia, questi studi non includono ricerche del problema della specializzazione biologica. GRASSO vedeva la necessità di un tale studio, nel suo rapporto sulla distribuzione geografica delle specie di *Tilletia* del frumento in Italia. Secondo GRASSO quattro specie di *Tilletia* del frumento si trovano in Italia. Queste sono *T. foetida*, *T. caries* (DC) Tul., *T. triticoides* Sav. e *T. intermedia* Gass. La più diffusa è *T. foetida*, perciò si spiega perchè tutti i campioni che abbiamo ricevuto appartenevano a questa specie.

MATERIALI E METODI

Otto campioni di *Tilletia foetida* e 17 razze di frumenti, comprendendovi entrambi i frumenti teneri e duri, sono stati usati in questo studio. La storia dei campioni è mostrata nella Tabella 1 e le razze di frumenti sono elencati nella Tabella 2. Parecchie di queste razze di frumenti sono state provate da CIFERRI e SCARAMUZZI in uno studio esteso sulla suscettibilità dei diversi frumenti italiani ad un miscuglio di clamidospore delle « carie » nelle diverse regioni d' Italia. Anche PETRALIA provò parecchie di queste razze in uno studio sulla suscettibilità comparativa dei frumenti teneri e duri, da cui concluse che i primi sono i più suscettibili.

---

(1) Questo studio è stato fatto sotto gli auspici di una borsa Fulbright presso l' Istituto Botanico dell' Università di Pavia.

(2) Sono grato al Prof. R. CIFERRI, Direttore dell' Istituto, per avermi fornito i mezzi e il materiale di ricerca, a lui, agli assistenti e al personale per l'ospitalità affabile che rese il mio soggiorno fra loro un divertimento e contemporaneamente un'incentivo per la ricerca.

TABELLA 1

Riassunto dell' informazione sulla storia dei campioni della *Tilletia foetida* usata nella prova sulle razze fisiologiche

Numero del Campione	OSPITE	LOCALITA'	Anno di Raccolta	Mandato da -
1	*Triticum vulgare* (S. Pastore)	Torino (Mirafiori)	1959	E. Castellani
2	*Triticum vulgare* „ *durum*	Sardegna (Sassari)	1958	
3	*Triticum vulgare*	Sardegna (Ottava)	1958	
4	*Triticum vulgare*	Napoli (Portici)	1960	M. Cristinzio
5	*Triticum vulgare*	Vicenza (Lonigo)	1960	A. Trentin
6	*Triticum vulgare* (Inallettabile 95)	Bologna	1960	M. Lollini
7	*Triticum vulgare*	Padova	1960	U. de Cillis
8	*Triticum vulgare*	Roma	1960	U. de Cillis

TABELLA 2

Elenco delle razze di frumento inoculato con clamidospore della *Tilletia foetida* da otto località.

Numero	Nome (*)	Numero	Nome (*)
1	Generale Riccagno	10	Casale 92
2	S. Pastore (Fam. 14)	11	Patrizio 6
3	Argento	12	Timilla S. G. 1
4	Campodoro	13	Aziziah 301
5	Generoso 7	14	Vera 63
6	Acciaio (St. C. 261)	15	Capeili 8
7	Funo	16	Russello S. G. 7
8	Carlo Gallini	17	Bufala Nera
9	Mara		

(*) Le prime 9 sono razze di frumento tenero; le altre sono razze di frumento duro.

Le sementi dei frumenti furono lavate in acqua corrente per rimuovere le spore di contaminazione, poi furono messe a seccare. Otto porzioni per ciascuna razza di frumenti furono inoculate con le spore di tutti i campioni individuali della *T. foetida*.

La procedura per l'inoculazione consiste nel sospendere le spore in una soluzione acquosa di « Methocel » al 5 % schiacciando le cariossidi cariate nella soluzione con una bacchetta di vetro. Con la stessa bacchetta furono poste poche gocce della sospensione di spore assieme ai semi in una piccola fiala di vetro. Quando l'acqua fu evaporata le spore furono tenute sui semi per mezzo della « Methocel » secca.

I semi inoculati furono seminati su doppie file lunghe 1 m. nei terreni dell' Istituto Tecnico Agrario « C. Gallini », alla periferia di Voghera ([1]). La data della semina fu il 7 marzo 1961 e tutte le razze maturarono in giugno, periodo in cui furono fatte le osservazioni per cercare le infezioni. Le percentuali d'infezioni furono calcolate sul numero di spighe infette per fila.

Le linee fisiologiche di *Tilletia* spp. sul frumento possono differire per la velocità della germinazione delle spore. Secondo Lowther le spore delle linee di *Tilletia foetida* generalmente germinano più rapidamente di quelle di *T. caries*. Per questa ragione, prima degli esperimenti sulle proprietà patogeniche, la vitalità, e anche la velocità della germinazione delle spore furono accertate per tutti i campioni di *T. foetida* elencati nella Tabella 1. Questi esperimenti sulla germinazione delle spore furono fatti nel laboratorio a tre diverse temperature. Le spore furono sparse su acqua agarizzata in capsule Petri e furono messe a germinare alle temperature 10°, 15° e 20° C. Dopo 3 giorni le spore furono esaminate quotidianamente al microscopio, per stabilire il tempo della germinazione, come era indicato per la produzione dei promiceli.

([1]) Sono grato al Dott. C. Moglia per avermi aiutato a stabilire e a mantenere il semenzaio.

RISULTATI

Germinazione delle spore in laboratorio. – La velocità della germinazione delle spore nel laboratorio fu differente in alcuni dei campioni alle 3 diverse temperature (10°, 15°, 20° C., Tabella 3). Le spore di tutti i campioni germinarono più rapidamente a 20° e molto lentamente a 10°. Le spore di 4 campioni (1, 5, 7, 8) germinarono dopo 4 giorni a 20° e dopo 5 giorni a 15°. Le spore degli stessi campioni germinano dopo 6 a 8 giorni a 10°. Le spore dei campioni 2 e 6 furono lentissime a germinare a tutte le temperature. Anche queste spore germinarono con promiceli anormali, di solito senza sporidii.

La influenza di temperatura sulla velocità differenziale della germinazione delle spore fu più pronunciata a 10° (Tabella 3). Ad esempio, le spore dei campioni 7 e 8 germinarono a velocità uguali alle temperature 20° e 15°, così come a 10° le spore del campione 7 germinarono più rapidamente.

TABELLA 3
Numero di giorni necessari per la germinazione delle spore in otto campioni di *Tilletia foetida* a tre diverse temperature

Temperatura (C.)	Numero di campioni e giorni per la germinazione							
	1	2 (1)	3	4	5	6 (1)	7	8
20°	4	7	5	5	4	6	4	4
15°	5	9	6	6	5	9	5	5
10°	8	14	10	10	7	14	6	8

(1) I numeri 2 e 6 hanno germinato con filamenti germinativi anormali, di solito senza sporidii.

Suscettibilità comparativa delle razze di frumento agli 8 campioni di Tilletia foetida. – Le reazioni delle 17 razze di frumento a ciascun campione di *T. foetida* sono indicate dalle percentuali di spighe cariate riportate nella Tabella 4. Le razze di frumento duro (numeri 10 - 17) erano resistenti a tutti i campioni di *T. foetida.*

TABELLA 4

Percentuali di spighe cariate che furono prodotte per 8 campioni di *Tilletia foetida* su 17 razze di frumento

Razza Numero [1]	Numero dei campioni							
	1	2	3	4	5	6	7	8
1	28	3	7	2	23	0	43	8
2	—	—	—	—	—	—	—	—
3	6	0	6	0	7	0	25	3
4	10	0	1	2	3	0	10	9
5	5	0	6	0	9	0	15	24
6	23	0	0	0	0	0	22	0
7	8	0	6	20	45	0	52	25
8	0	0	5	0	54	0	25	8
9	0	22	0	0	0	0	21	36
10	0	0	0	0	0	0	0	0
11	0	0	0	0	0	0	0	0
12	0	0	0	0	0	0	0	0
13	0	0	0	0	0	0	0	0
14	0	0	0	0	0	0	0	0
15	0	0	0	0	0	0	0	0
16	0	0	0	0	0	0	0	0
17	0	0	0	0	0	0	0	0

(1) Vedi i nomi nella Tabella 2. La razza numero 2 non ha prodotto spighe essendo essa una razza invernale.

Le razze di frumento tenero mostravano suscettibilità ad alcuni dei campioni e resistenza ad altri. La razza più suscettibile era Funo (numero 7) e la razza più resistente tra i frumenti teneri era Acciaio (numero 6). Nessuna delle razze mostrava suscettibilità a tutti i campioni e tutte le razze erano resistenti al campione numero 6.

Linee patogeniche di Tilletia foetida. – Ci sono parecchie linee patogeniche di *T. foetida* fra gli otto campioni provati. Queste linee sono differenziate per le reazioni delle razze di frumento tenero. Ad esempio, come si vede nella Tabella 5, le reazioni delle razze elencate possono differenziare quattro linee patogeniche. La linea patogenica 1 è caratterizzata per la suscettibilità delle razze 1 e 6 e la resistenza delle razze 7 e 9. La linea patogenica 2 è caratterizzata per la suscettibilità della razza 9 e la resistenza delle altre razze. Queste due linee patogeniche sono differenziate per le reazioni contrastanti delle razze 1, 6, 9. Nella stessa maniera, la linea patogenica 5 è differenziata dalle linee 1 e 2 per la reazione contrastante della razza 7. La linea patogenica 7 è caratterizzata per la suscettibilità di tutte cinque le razze, e può essere differenziata dalla linea 5 per le reazioni contrastanti delle razze 6 e 9.

TABELLA 5
Reazioni differenziali delle razze di frumento alle linee patogenetiche di *Tilletia foetida*

Razze di frumento		Reazioni alle linee patogeniche			
Numero	Nome	1	2	5	7
1	Genere Reccagno	S	R	S	S
6	Acciaio	S	R	R	S
7	Funo	R	R	S	S
9	Mara	R	S	R	S

RIASSUNTO

I risultati di uno studio preliminare con 8 campioni della *Tilletia foetida* e 17 razze di frumento mostrano che ci sono parecchie linee fisiologiche di questa specie in Italia. Occorre uno studio più profondo di questo problema, sulla base dello sviluppo delle razze in relazione con la resistenza a tutte le linee fisiologiche.

SUMMARY

The results of a preliminary study with 8 collections of *Tilletia foetida* and 17 varieties of wheat show that there are several physiologic races of this species in Italy. There is need for an intensive study of this problem in Italy, as a basis for the development of varieties of wheat with resistance to all of the physiologic races.

BIBLIOGRAFIA

Ciferri R. e Scaramuzzi G. (1957) — Suscettibilità delle linee selette italiana di frumento alle «carie» e tassonomia delle *Tilletia triticicole*. Parte I. - Risultati delle infezioni in campo. *Ann. Sperim. Agr.* (n. s.), **11**, 719-722.

Grasso V. (1948) — Le specie di *Tilletia* del frumento esistenti in Italia e loro distribuzione geografica. *Ibidem*, **2**, 525,-546.

Lowther C. V. (1950) — Chlamydospore germination in physiologic races of *Tilletia caries* and *Tilletia foetida*. *Phytopathology*, **40**, 590-603.

Petralia L. (1958) — I frumenti teneri e i frumenti duri di fronte alle infezioni artificiali da «carie» (*Tilletia* spp.) negli ambienti pedoclimatici della Sicilia. (Nota preliminare). *Ann. Sperim. Agr.* (n. s.), **13**, 1557-1568.

TRASMISSIONE
DELLE VIROSI DELLA VITE A SPECIE ERBACEE (1) (2)

(con due tavole)

A. CORTE e R. CIFERRI

Da alcuni anni sono in corso presso i nostri Istituti prove di trasmissione delle virosi della Vite a varie specie di piante arboree ed erbacee per la ricerca di adatte piante « indicatrici » o « rivelatrici » da impiegare nello studio della malattia.

Interessanti sono i risultati ottenuti nelle trasmissioni su specie arboree ed in merito a questi si è già riferito in precedenza (Ciferri, Corte, Scaramuzzi, 1959; Ciferri, Corte, 1960) ed in questa stessa sede vengono esposti i risultati ottenuti nelle prove condotte in collaborazione con l'Istituto di Patologia vegetale dell'Università di Milano (Baldacci, Ciferri e coll., 1961).

In merito alle prove di trasmissione su specie erbacee si è fatto sin'ora solo un'accenno (Ciferri e Corte, 1960) in quanto i primi risultati ottenuti ci lasciarono un poco perplessi per le basse percentuali d'infezione e per l'aspecificità dei sintomi apparsi.

Ripetendo le prove, si è accertata una certa costanza nella reattività delle specie e nella ripetizione dei sintomi per cui riteniamo che i risultati ottenuti possano essere presi in considerazione agli effetti di questo nostro lavoro.

MATERIALE VITICOLO INFETTO IMPIEGATO

Si sono scelti quattro cloni di viti virosate (due europee e due americane) che presentano le seguenti sintomatologie:

---

(1) Studi del Gruppo di Lavoro del C.N.R. per le Virosi: XXXII.

(2) Questo lavoro è stato presentato al « Panel » sulla « Degenerazione infettiva della Vite », tenutosi a Voghera il 15 ottobre 1960.

a) Vite « Barbera », naturalmente infetta, proveniente da Mongardino (Asti), con malformazioni fogliari e dei tralci, sviluppo vegetativo ridotto, fruttificazione scarsa e lieve giallume.

b) Vite « Croattina », naturalmente infetta, proveniente da Montù Beccaria (Pavia), con marcatissimo giallume infettivo, sviluppo vegetativo ridottissimo, foglie molto piccole e malformate, produzione pressochè nulla.

c) *Vitis Rupestris* « du lot », naturalmente infetta, proveniente da Mongardino (Asti), con sole malformazioni fogliari e dei tralci.

d) Ibrido *Riparia* × *Rupestris* « 3309 », sperimentalmente infettato con la cv. di Vite « Uva melona » proveniente da Conegliano Veneto (Treviso). Presenta sviluppo ridottissimo di tutte le parti della pianta ed intensa clorosi fogliare.

SPECIE ERBACEE IMPIEGATE

Riportiamo l'elenco delle specie impiegate, indicando a fianco ad ognuna di esse, tra parentesi, l'età approssimativa alla quale sono state utilizzate per le prove.

Amarantus caudatus	(di 50 - 80 giorni di età)
Beta vulgaris	(id.)
Blitum capitatum	(id.)
Bryonia dioica	(id.)
Chenopodium album	(id.)
» *quinoa*	(id.)
» *urbicum*	(id.)
Coronilla emerus	(id.)
Cucumis melo var. « di Malta » . . .	utilizzate nello stadio in cui i cotiledoni si presentavano bene spiegati e la prima fogliolina era ancora chiusa (10 - 15 giorni)
» *pepo* var. « tonda di Bologna »	
» *sativus* var. « comune » . . .	
Datura metel	utilizzate quando le prime due foglie adulte erano completamente sviluppate (40 - 60 giorni)
» *stramonium*	
» *stramonium* var. « inermis » .	
» *tatula*	
Fragaria vesca	(giovani piantine)
Gomphrena globosa	(di 50 - 80 giorni di età)
Lactuca sativa	(di 30 - 60 giorni di età)

Lupinus albus	(di 20 - 30 giorni di età)
Nicandra physaloides	(di 40 - 60 giorni di età)
Nicotiana glutinosa	(id.)
» *langsdorffii*	(id.)
» *tabacum* v. « White Burley »	(id.)
Petunia hybrida	(id.)
Phaseolus vulgaris	(di 20 - 30 giorni di età)
Pisum sativum	(di 20 - 30 giorni di età)
Solanum lycopersicum	(di 40 - 60 giorni di età)
Soja hyspida	(di 20 - 30 giorni di età)
Spinacia oleracea	(di 40 - 60 giorni di età)
Tetragonia expansa	(id.)
Verbesina encelioides	(id.)
Vicia faba	(di 20 - 30 giorni di età)
Zinnia elegans	(di 40 - 60 giorni di età)

METODOLOGIA SPERIMENTALE ADOTTATA

Nel corso di questi ultimi tre anni le prove di trasmissione in questione vennero effettuate e ripetute a più riprese, in vari periodi dell'anno, adottando diverse tecniche d'inoculo e di lavoro.

I primi tentativi vennero effettuati con il metodo d'infezione per « abrasione » con polvere di quarzo, impiegando come materiale d'inoculo la poltiglia ricavata da foglie e teneri germogli di viti virosate. In queste prove le piante vennero tenute alle normali condizioni ambientali del periodo in cui si è operato.

Considerate le percentuali molto basse d'infezione e l'incostanza dei risultati ottenuti, si ricorse alla tecnica d'infezione per « inserzione di tessuti » (« Chip - budding »), prelevando il materiale d'inoculo da giovani germogli di vite. I tessuti di viti virosate venivano inseriti sui fusticini o sui cotiledoni (per le specie a cotiledoni carnosi) delle giovani piantine in esame. Anche in questa prova le piante vennero tenute alle normali condizioni ambientali del periodo in cui si è operato.

Nei risultati non si ebbe alcun miglioramento rispetto a quelli ottenuti col metodo precedente.

Si ricorse quindi ad una tecnica più complessa consistente nel sottoporre le giovani piantine da inoculare ad un trattamento termico per aumentare la suscettibilità all'infezione e mantenendole

(dopo effettuati gli inoculi), per periodi di tempo prestabiliti in particolari condizioni di temperatura, di luce e di umidità. In linea di massima, la tecnica di lavoro adottata in questa serie di prove fu la seguente:

a) *Pretrattamento sensibilizzante* — Le piantine pronte per essere inoculate vennero mantenute per 24 ore alla temperatura di 36° C, in ambiente saturo di umidità.

b) *Inoculo* — Sulle piante così trattate vennero operate le infezioni adottando contemporaneamente i due metodi d'inoculo sopra descritti. Con il metodo « per abrasione » si operò sulle giovani foglie e sui cotiledoni e con quello per « inserzione di tessuti » (« Chip - budding ») sui fusticini.

c) *Post trattamento*, suddiviso in due periodi:

1) *Periodo a temperatura costante* — Le piante inoculate vennero tenute per 8 giorni costantemente alla temperatura di 18-20° C.

2) *Periodo con sbalzi di temperatura* — Le stesse piante vennero poi sottoposte per 10 giorni al seguente trattamento: 12 ore alla temperatura di 18 - 20° C ed illuminate con luce bianca, alternate a 12 ore a 10 - 12° C ed al buio.

Anche con questo metodo le percentuali d'infezione si sono mantenute basse; mentre si è avuto un lieve miglioramento nella costanza della comparsa dei sintomi ed inoltre si è avuta la comparsa di sintomi che non apparvero operando nelle altre condizioni.

Ultimo metodo adottato è quello d'infezione a mezzo di « innesti per approssimazione ». Le piantine erbacee (coltivate in vaso) vennero poste nelle immediate vicinanze dei vasi contenenti le viti infette e si operarono le infezioni ponendo a contatto (per lunghezze variabili da 0,5 a 3 cm., a seconda dello sviluppo delle piantine) i tessuti meristematici dei germogli erbacei di viti virosate con quelli delle giovani piantine in esame. Le due parti venivano saldamente assicurate fra loro a mezzo di apposito nastro gommato e mantenute fisse mediante sostegni.

E' questo il metodo con il quale si sono ottenuti sin'ora i migliori risultati.

RISULTATI OTTENUTI

I risultati ottenuti, per semplicità e chiarezza, sono raggruppati nello « schema riassuntivo » che qui alleghiamo.

In detto schema sono riportati i dati relativi alle singole prove prendendo in considerazione solo le specie che hanno reagito ed i casi in cui sono apparsi sintomi.

Sono indicati i metodi d'infezione adottati, le epoche in cui sono state eseguite le prove ed i cloni di viti virosate impiegati.

Per quel che riguarda i dati numerici riportati nella tabella, il primo numero, della frazione, indica le piante che hanno reagito, ed il secondo, il numero di individui sui quali si è operato.

Nella tabella, il trattino orizzontale serve ad indicare che non si è avuto la comparsa di sintomi e quello verticale, che in quel determinato caso l'infezione non è stata operata.

Per ciascun clone di vite virosata utilizzata per le infezioni sono riportate, anno per anno, le specie erbacee sulle quali si sono manifestati i sintomi, il numero di piantine su cui si è operato e le percentuali di infezione. Infine, in un « quadro riassuntivo » è riportata la sommatoria dei risultati di tutte le prove.

Passando ad esaminare i risultati ottenuti si osserva che:

1) I sintomi si sono manifestati su sette delle 33 specie erbacee prese in esame.

2) Le sette specie non hanno reagito tutte con tutti i cloni di viti virosate saggiati, ma alcune si sono dimostrate sensibili solo a determinati cloni di vite e le altre ad altri. E più precisamente,

La *Datura stramonium* e la *D. stramonium* var. *inermis* hanno manifestato sintomi con « Barbera », « Rupestris » e « Croattina »; non con il « 3309 ». Il *Lycopersicum esculentum*, ha reagito con « Barbera » e « Croattina » e non con le altre due. La *Coronilla emerus* solo con « Croattina ». *Petunia hybrida* e *Gomphrena globosa* solo con « 3309 ». La *Cucurbita pepo* var. « tonda di Bologna » solo con « Barbera » e solamente quando venne sottoposta al pretrattamento termico.

Riassumiamo ora le sintomatologie apparse sulle succitate specie erbacee.

Datura stramonium e *D. stramonium* var. *inermis* — Dopo sei - dieci giorni dall'inoculo sulle foglie inoculate si è manifestato un lieve mosaico spesso seguito da piccole necrosi. In qualche caso

il sintomo apparve anche sulle foglie formatesi nel periodo immediatamente successivo agli inoculi. La var. « inermis » è risultata più sensibile della specie comune.

Petunia hybrida — Le foglie sviluppate successivamente all'inoculo hanno assunto un tipico aspetto pergamenaceo ed una notevole fragilità per l'eccessivo aumento in spessore del mesofillo fogliare. Si presentano pure di aspetto clorotico con macchie giallognole più o meno estese, ripiegate a coppa e più o meno bollose.

Gomphrena globosa — Parte delle foglie sviluppate in seguito agli inoculi presentano una maculatura clorotica più o meno estesa localizzata per lo più nelle parti mediana od apicale con deformazione del lembo. Le aree a clorosi più intensa in qualche caso necrotizzarono.

Lycopersicum esculentum — Le foglie sviluppate in seguito agli inoculi si presentano increspate e lievemente deformate, con piccole aree clorotiche prevalentemente localizzate in corrispondenza delle venature.

Coronilla emerus — A distanza di circa un mese dagli inoculi sulle giovani foglioline si è avuta la comparsa di lievi aree giallognole le quali, a mano a mano che la foglia si sviluppava si estendevano maggiormente interessando tanto il mesofilo quanto le venature.

Cucurbita pepo var. « tonda di Bologna ». — Solo nel caso in cui le piante sono state sottoposte al pretrattamento termico sensibilizzante si sono avute, sulle prime foglioline sviluppate subito dopo gli inoculi, punteggiature necrotiche addensate in prevalenza in alcuni tratti del lembo. Quando queste stesse piante sono state sottoposte agli sbalzi termici (temperature di 10 - 12° C alternate a temperature di 18 - 20° C ad intervalli di 12 ore) sulle foglie meno giovani si è avuta una totale depigmentazione delle zone nervali e perinervali, mentre i tratti internervali conservavano la colorazione verde.

Schema riassuntivo dei risultati ottenuti nelle prove di trasmissione delle virosi della vite su piante erbacee effettuate durante gli anni 1958-59-60. — (Si riportano solo i casi in cui le specie hanno reagito).

<table>
<tr><th rowspan="4">Specie erbacee sulle quali sono apparsi sintomi</th><th colspan="9">1958</th><th colspan="6">1959</th><th colspan="4">1960</th></tr>
<tr><th colspan="6">1ª Serie di prove (Infezione per « abrasione »)</th><th colspan="3">2ª Serie di prove (Infezione per « inserzioni di tessuti » (« Chip.-budding »)</th><th colspan="6">3ª serie di prove (Infezione contemporanea per « abrasione » e per « inserzioni di tessuti »)</th><th colspan="4">4ª serie di prove (Infezione a mezzo di « innesti per approssimazione »)</th></tr>
<tr><th colspan="3">Aprile-Maggio</th><th colspan="3">Giugno-Luglio</th><th colspan="3">Settembre-Ottobre</th><th colspan="3">Maggio-Giugno</th><th colspan="3">Agosto-Settembre</th><th colspan="4">Agosto-Settembre</th></tr>
<tr><th>Barbera</th><th>3309</th><th>Rup.</th><th>Barbera</th><th>3309</th><th>Rup.</th><th>Barbera</th><th>3309</th><th>Rup.</th><th>Barbera</th><th>3309</th><th>Rup.</th><th>Barbera</th><th>3309</th><th>Rup.</th><th>Barbera</th><th>3309</th><th>Rup.</th><th>Croatt.</th></tr>
<tr><td>Datura stramonium var. « inermis »</td><td>1/8</td><td>—</td><td>1/8</td><td>1/10</td><td>—</td><td>—</td><td>1/10</td><td>—</td><td>—</td><td>1/10</td><td>—</td><td>1/8</td><td>|</td><td>|</td><td>|</td><td>2/15</td><td>—</td><td>1/10</td><td>—</td></tr>
<tr><td>Datura stramonium</td><td>1/10</td><td>—</td><td>—</td><td>—</td><td>—</td><td>—</td><td>|</td><td>|</td><td>|</td><td>1/8</td><td>—</td><td>—</td><td>—</td><td>—</td><td>1/10</td><td>|</td><td>|</td><td>|</td><td>|</td></tr>
<tr><td>Petunia hybrida</td><td>—</td><td>—</td><td>—</td><td>—</td><td>1/10</td><td>—</td><td>—</td><td>1/8</td><td>—</td><td>—</td><td>—</td><td>—</td><td>—</td><td>2/10</td><td>—</td><td>—</td><td>3/15</td><td>—</td><td>—</td></tr>
<tr><td>Lycopersicum esculentum</td><td>|</td><td>|</td><td>|</td><td>—</td><td>—</td><td>—</td><td>1/8</td><td>—</td><td>—</td><td>1/7</td><td>—</td><td>—</td><td>|</td><td>|</td><td>|</td><td>2/12</td><td>—</td><td>—</td><td>1/8</td></tr>
<tr><td>Gomphrena globosa</td><td>|</td><td>|</td><td>|</td><td>|</td><td>|</td><td>|</td><td>—</td><td>1/8</td><td>—</td><td>|</td><td>|</td><td>|</td><td>—</td><td>2/10</td><td>—</td><td>—</td><td>3/15</td><td>—</td><td>—</td></tr>
<tr><td>Cucurbita pepo var. « tonda di Bologna »</td><td>|</td><td>|</td><td>|</td><td>—</td><td>—</td><td>—</td><td>—</td><td>—</td><td>—</td><td>—</td><td>—</td><td>—</td><td>2/10</td><td>—</td><td>—</td><td>—</td><td>—</td><td>—</td><td>—</td></tr>
<tr><td>Coronilla emerus</td><td>|</td><td>|</td><td>|</td><td>|</td><td>|</td><td>|</td><td>|</td><td>|</td><td>|</td><td>|</td><td>|</td><td>|</td><td>|</td><td>|</td><td>|</td><td>—</td><td>—</td><td>—</td><td>3/22</td></tr>
</table>

Totale prove 1958
(percentuale di piante infette)

Barbera:
- *Datura stramonium* var. « inermis » (10)
- *Datura stramonium* (3)
- *Lycopersicum esculentum* (4,2)

3 3 0 9:
- *Petunia hybrida* (8)
- *Gomphrena globosa* (6)

Rupestris; *Datura stramonium* var. « inermis » (5)

Totale prove 1959
(percentuale di piante infette)

Barbera:
- *Datura stramonium* var. « inermis » (5)
- *Datura stramonium* (6)
- *Lycopersicum esculentum* (5)
- *Cucurb. pepo* var. « tonda di Bologna » (10)

3 3 0 9:
- *Petunia hybrida* (11)
- *Gomphrena globosa* (5)

Rupestris:
- *Datura stramonium* var. « inermis » (5)
- *Datura stramonium* (5)

Totale prove 1960
(percentuale di piante infette)

Barbera:
- *D. stramonium* var. « inermis » (13)
- *Lycopersicum esculentum* (16)

3 3 0 9:
- *Gomphrena globosa* (20)
- *Petunia hybrida* (20)

Rupestris: *D. stramonium* var. « inermis » (10)

Croattina:
- *D. stramonium* var. « inermis » (12)
- *Lycopersicum esculentum* (8)
- *Coronilla emerus* (16)

Quadro riassuntivo di tutte le prove
(percentuale di piante infette)

Barbera:
- *Datura stramonium* (4)
- *Datura stramonium* var. « inermis » (10)
- *Lycopersicum esculentum* (6)
- *Cucurbita pepo* var. « tonda di Bologna » (4)

3 3 0 9:
- *Petunia hybrida* (16)
- *Gomphrena globosa* (12)

Rupestris:
- *Datura stramonium* var. « inermis » (8)
- *Datura stramonium* (3)

Croattina:
- *Datura stramonium* var. « inermis » (16)
- *Lycopersicum esculentum* (8)
- *Coronilla emerus* (16)

(Spiegazione dei segni)

— mancanza di sintomi.

| prova non eseguita.

CONCLUSIONI

Mentre appare evidente il passaggio di virus da viti affette da « degenerazione infettiva » a specie erbacee, in base a questi soli dati non ci è però ancora possibile concludere se i virus trasmessi siano i veri responsabili della malattia nella Vite o, se in qualche caso almeno, non si tratti di qualche altro virus associato.

Premesso ciò, ci pare di un certo interesse il fatto che il comportamento delle specie erbacee saggiate è stato diverso a seconda della sintomatologia che appariva come preminente sulle viti dalle quali è stato prelevato l'inoculo.

Nei casi in cui la sintomatologia preminente era data da « malformazioni » delle foglie e dei tralci si sono manifestati sintomi su *Datura stramonium*. Quando il sintomo preminente era costituito da intensa clorosi e sviluppo ridottissimo di tutte le parti della pianta le specie erbacee che hanno reagito sono state la *Petunia hybrida* e la *Gomphrena globosa*.

Nei casi in cui erano associati « giallume » e « malformazioni », si sono avuti, in due casi sintomi su *Lycopersicum esculentum* ed in uno su *Coronilla emerus*.

Purtroppo non ci è stato possibile usare per le infezioni viti con un solo sintomo, per cui non possiamo avere la certezza che i risultati ottenuti, caso per caso, siano da attribuire al virus che nella Vite era preminente, od al complesso di virus presenti nella pianta, se non, addirittura a qualche virus mascherato.

I dati da noi ottenuti concordano solo in parte con quelli di altri ricercatori (Ochs, 1948 e succ.; Cadman e Coll., 1960; Baldacci e Coll., 1960; Sabados e Coll., 1960) ed anche quelli poco concordano fra loro. Ciò, a nostro avviso, dipende dal fatto che in queste prime prove si è operato un po' tutti con materiale (Vite e piante erbacee) e tecniche diverse. Viene però sempre confermata la trasmissione di virus dalla Vite a piante erbacee.

RIASSUNTO

Si riferisce su una serie di prove di trasmissione delle virosi della Vite a piante erbacee condotte in questi ultimi tre anni.

Il materiale d'inoculo venne prelevato da quattro cloni di Vite presentanti differenti sintomatologie, che vengono descritte. Le specie erbace saggiate sono 33 appartenenti a 24 generi di 8 famiglie. Si descrivono pure le tecniche di lavoro adottate.

I risultati ottenuti sono stati riuniti sotto forma di tabella e riferiti sia alle specie erbacee che hanno manifestato sintomi (7 su 33) che ai cloni di Vite impiegati per le infezioni.

Vengono quindi descritti i sintomi riscontrati sulle specie erbacee e discussi i risultati.

SUMMARY

Transmission of vine plant virus diseases to herbaceous plants
by
A. Corte and R. Ciferri

The experiences were performed during the last three years, starting from four clones of the vine plants, which symptomatologies are described. The inoculations were made to 33 species of herbaceous plants pertaining to 24 genera of 8 families. The techniques used are described.

Positive result has been obtained on 7 species. Plants with preheminent symptomatology of foliar and shoot malformation reacted with *Datura stramonium*; chlorosis and dwarfing reacted with *Petunia hybrida* and *Gomphrena globosa*; yellowish with malformation reacted with *Lycopersicum esculentum* and *Coronilla emerus*. The comparative symptomatology is discussed.

LETTERATURA CITATA

Baldacci E., Amici A., Bonola P., Betto E., Fogliani G. e Refatti E. (1960) — Trasmissione su piante erbacee della virosi della vite nota come « degenerazione infettiva ». *La Ricerca Scientifica*, **30**, 981-983.

Baldacci E., Amici A., Belli G., Betto E., Bonola P., Fogliani G., Giussani G. e Refatti E. (1961) — Ricerche sulle malattie da virus della vite: semeiotica, eziologia, perpetuazione e prevenzione. *Riv. Pat. Veg.*, ser. III, **1** (2), 114-231.

Baldacci E., Ciferri R., Corbetta F., Corte A., Fogliani G. e Refatti E. (1961) — Piante « teste » arboree per la diagnosi della « degenerazione infettiva » della vite. *Riv. Pat. Veg.*, ser. III, **1** (3), 261-293.

Cadman C. H., Dias H. F. and Harrison B. D. (1960) — Sap-transmissible viruses associated with diseases of grape vines in Europe and North America. *Nature*, **187** (4737), 577-579.

Ciferri R., Corte A. e Scaramuzzi G. (1959) — Suscettibilità di piante arboree alla sindrome virosica della « degenerazione infettiva » della vite. *Atti Ist. Bot. Lab. Critt. Univ. Pavia*, **16**, 335-352.

Ciferri R. e Corte A. (1960) — Experimental transmission of vine « infectious degeneration virus» occurrence on various host in Italy. *FAO Plant Protection Bull.*, **8** (7), 79-81.

Ochs G. (1958) — Über drei Viren als Erreger von Rebkrankeiten. *Zeitsch. f. Plfanzenk. u. Pflanzenschutz*, **65**, 11-17.

Saric (Sabados) A., Panjan M. (1961) — Trasmissione su piante erbacee delle virosi della vite. *Riv. Pat. Veg.*, ser. III, **1** (3), 294-297.

Spiegazione della Tavola I:

A - Maculatura clorotica e deformazioni del lembo in foglie di *Gomphrena hybrida* sperimentalmente infettata con viti i cui sintomi preminenti erano dati da clorosi molto intensa e sviluppo vegetativo ridottissimo.

Chlorotic spots and leaf deformations on Gomphrena hybrida *infected with vine plant showing severe chlorosis and strong dwarfing.*

B - Su *Petunia hybrida* sperimentalmente infettata con Vite che mostrava intensissima clorosi e sviluppo ridottissimo, si è avuta decolorazione e giallume fogliare. Le foglie si presentano inoltre ripiegate a coppa e con lembo ispessito.

Water-soaked spots and yellowing, with bowl-shaped leaves having thickened margin on Petunia hybrida *infected with vine plant showing severe chlorosis and strong dwarfing.*

C - Lieve mosaico e aree necrotiche in *Datura stramonium* var. inermis sperimentalmente infettata con viti virosate, il cui sintomo preminente era dato da malformazioni delle foglie e dei tralci e lieve giallume.

Mild mosaic and necrotic spots on Datura stramonium *var.* inermis *infected with vine plant with leaf and shoot malformations and mild yellowing.*

Spiegazione della Tavola II:

A - Foglie di *Coronilla emerus* sperimentalmente infettata con Vite fortemente affetta da giallume e con sviluppo ridottissimo. Il sintomo è dato da macchie giallognole variamente estese sulle fogliole.

Yellowish leaf spot on Coronilla emerus *infected with vine plant showing yellowing and severe dwarfing.*

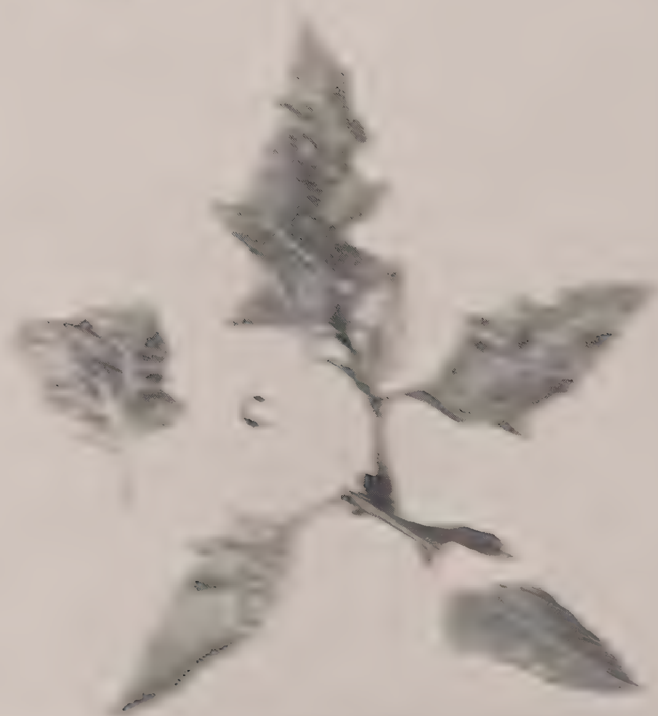
B - Sintomalogia a venature traslucide apparsa in *Cucurvita pepo* var. " Tonda di Bologna „ sottoposta a trattamenti termici prima e dopo l'inoculo. I sintomi presenti sulla Vite erano dati da malformazioni e lieve giallume fogliare.

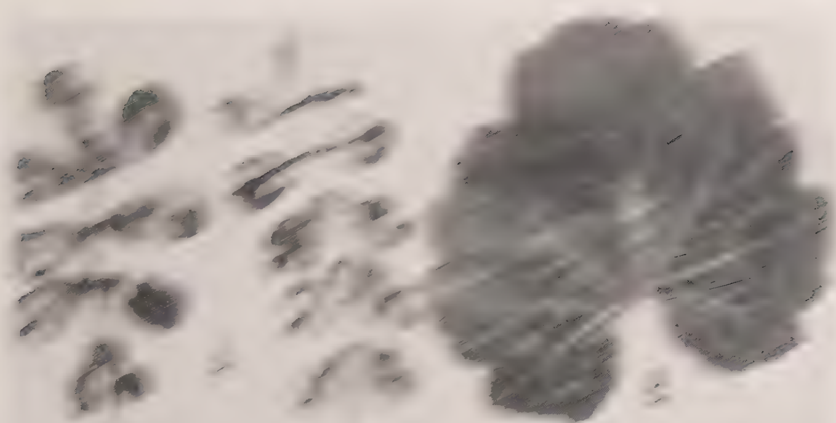
Vein clearing on Cucurbita pepo *var. " Tonda di Bologna „ submited to thermical treatment before and after inoculation with material from vine plant affected by malformations and mild yellowing.*

C - Sintomatologia apparsa in *Lycopersicum esculentum* sperimentalmente infettato con Vite con malformazioni e giallume. I sintomi su pomodoro sono costituiti da aree clorotiche e bollosità fogliari.

Chlorotic spots and crinckle on Lycopersicum esculentum *infected with vine plant showing malformations and yellowing.*









PATOGENICITÀ DI *GEOTRICHUM* ED ALTRI FUNGHI ARTROSPOREI PER IL FRUTTO DI POMODORO

G. CARETTA

CIFERRI e BALDACCI (1933) studiando la malattia fisiologica dei frutti di pomodoro conosciuta come « marciume apicale » (« blossom - end rot »), riesaminarono anche dei marciumi dovuti a funghi tra i quali quello prodotto da specie del genere *Geotrichum*. Tralasciando quanto concerne i marciumi indotti da altri funghi e da batteri, essi osservarono che il « marciume acquoso » provocato da *Geotrichum candidum* Link è il più frequente. Il merito di aver studiato e definito chiaramente il comportamento del *Geotrichum* nei tessuti dei frutti di pomodoro spetta a PEROTTI e CRISTOFOLETTI (1914) i quali indicano il fungo come *Oospora* (*Oidium*) *lactis* var. *solani*. La segnalazione di PEGLION (1922) di una malattia nei frutti di pomodoro causata dal *Polyscitalum album*, viene attribuito da CIFERRI e BALDACCI al *Geotrichum lactis* (v. CIFERRI e CARETTA, 1961). Il marciume acquoso attribuito a *Geotrichum*, viene segnalato negli Stati Uniti da POOLE (1922) in cui il fungo attacca di preferenza i frutti maturi, ma anche quelli immaturi o verdi. Sulla stessa malattia riscontrata negli Stati Uniti uno studio importante è quello di PRITCHARD e PORTE (1923) i quali chiamano il fungo *Oospora lactis* var. *parasitica*, nonchè quelli di WEBER e RAMSEY (1926), WEI e CHEO (1944) e BUTLER (1960).

Tutti gli studiosi precedentemente citati si sono limitati allo studio della patogenicità del *Geotrichum candidum*: nessuno, per quanto a nostra conoscenza, ha cercato di vedere se anche altre specie del genere *Geotrichum* oppure dei ceppi di *G. candidum* distinti eventualmente come varietà, fossero capaci di indurre su pomodoro il marciume acquoso di cui in precedenza. E' questo il lavoro sul quale riferiamo nella presente nota (1).

---

(1) Oltre alla specie *G. candidum* è stato studiato il comportamento di altri funghi artrosporei che gravitano intorno a *Geotrichum*.

MATERIALI E METODI DI STUDIO

Le esperienze e le osservazioni che seguono, sono state eseguite su frutti di pomodoro sani e maturi acquistati sul mercato di Pavia. Le condizioni di tecnica con cui si operò furono le stesse descritte dal BUTLER (1960). I ceppi furono coltivati per 24 h. alla temperatura di 25° C in succo di pomodoro e acqua nella proporzione di 2 : 1 e la sospensione fungina quindi inoculata a cm. 2 di distanza dal picciolo. I frutti di pomodoro, previamente lasciati per 5 minuti in una soluzione di ipoclorito di sodio al 0,5 % vennero lavati in acqua distillata ed il punto di inoculo disinfettato con etanolo al 70 %. I frutti così inoculati vennero posti in sacchetti di polietilene internamente spruzzati con acqua e lasciati sino al quindicesimo giorno alla temperatura di 25° C. Poichè il succo di pomodoro è un eccellente substrato per lo sviluppo di funghi saprofiti, la patogenicità dei ceppi fungini per il frutto stesso è stata accertata sulla base dello sviluppo del micete nella profondità dei tessuti e in particolare di quelli placentari. In conseguenza se il fungo si è sviluppato soltanto sulla superificie del frutto e attorno alla ferita di inoculo, è stato considerato come saprofita, cioè non patogeno per il frutto stesso.

La serie dei funghi comprendeva i seguenti ceppi:

Geotrichum candidum Link ex Pers.
G. suaveolens (Lindn.) Cif.
G. amycelicum Red. et Cif.
G. hirtum Windisch
G. versiforme Moore
G. javanense Ver. (= *G. candidum*)
G. matalense Cast. (= *G. candidum*)
G. rotundatum (Cast.) Cif. et Red.
G. rugosum (Cast.) Dodge
Mycoderma lactis Sacc. (= *G. candidum*)
M. pulmoneum Vuill. (sembra essere una specie del genere *Candida* non ancora studiata a fondo)
Coremiella cuboidea (Sacc. et Ell.) Cif. et Car.
Magnusiomyces ludwigii Zender
Trichosporon pullulans (Lindn.) Didd. et Lodd.

RISULTATI

Inoculazione con *Geotrichum candidum* Link.

Vari frutti inoculati con la tecnica descritta precedentemente mostrano 3 giorni dopo l'inoculo la formazione di una colonietta che si localizza intorno al punto di inoculazione. Dopo 8 giorni si ebbe la formazione di una colonia superficiale emisferica, bianca del diam. di 6 - 8 mm. pelosa, quasi irsuta delimitata da un anello brunastro quasi nero.

In sezione longitudinale, tutte le bacche inoculate mostravano la progressione dell'infezione e la caratteristica del marciume molle diffuso alla placenta, di aspetto brunastro, senza emanazione di aromi particolari. Il pericarpo si presenta in tutto lo spessore per un diam. di 6 mm., molle, brunastro. Tale colorazione brunastra interessa i semi e in parte la placenta. Dove la placenta gelificata tente a retrarsi dall'endocarpo lasciando piccole cavità vuote, ivi il frutto si sviluppa con caratteristiche macroscopiche del micelio analoghe a quelle riscontrate sull'epicarpo: il micelio è bianco, polveroso e peloso.

L'indagine morfologica del fungo è stata rivolta a tutte le sedi di sviluppo del fungo a partire dalla colonia superficiale nel punto di inoculo fino all'interno della bacca presentante le caratteristiche del marciume.

L'osservazione microscopica del materiale prelevato in superficie, allestito in lattofenolo, pur mostrando gli elementi costitutivi in parte scissi nei loro rapporti reciproci di connessione ci permette tuttavia di riconoscere la morfologia e la morfogenesi del fungo nonchè di rilevarne le caratteristiche del micelio, la modalità di riproduzione e di liberazione delle artrospore.

Le caratteristiche morfologiche del micelio sono le stesse da noi descritte per *Geotrichum candidum* e analoghe sono le modalità di riproduzione e di liberazione delle artrospore. Le artrospore sono rettangolari o cuboidee ad angoli smussati ($4{,}8 - 12{,}8 \times 2{,}4 - 4\ \mu$). Sono pure presenti artrospore clamidosporioidi ovoidali del diam. di $6{,}4 - 8\ \mu$ circa, alcune in fase di germinazione. I segmenti miceliari componenti l'ifa principale sono in prevalenza ialini o debolmente opachi e misurano $32 \times 6{,}4\ \mu$ circa.

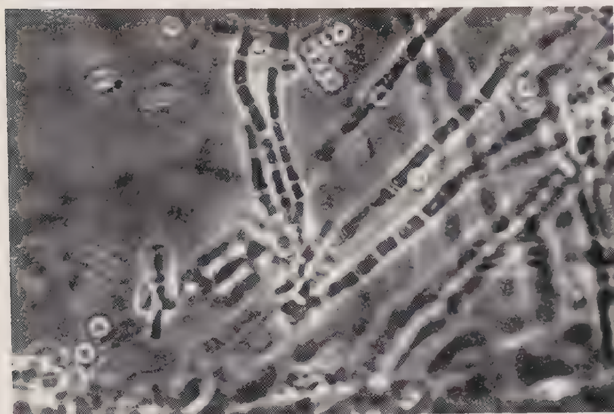


Fig. 1
Catenelle di artrospore di *Geotrichum candidum*
a sviluppo superficiale

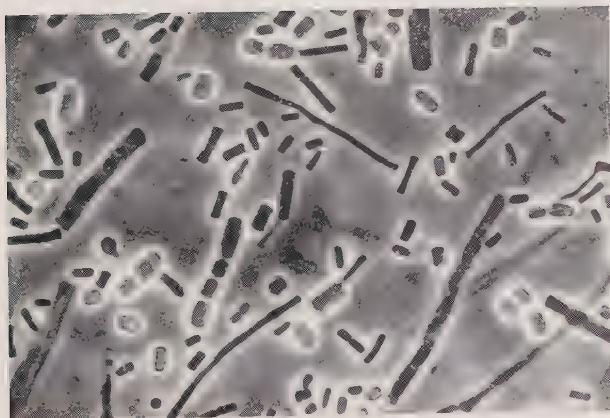


Fig. 2
Artrospore e segmenti miceliari di *Geotrichum candidum*

L'aspetto morfologico del fungo prelevato nel tratto medio dello spessore del pericarpo colpito dal marciume, già si differenzia morfologicamente in rapporto al suo sviluppo in superficie. Lo sviluppo del fungo è in questa sede prevalentemente miceliare: predomina infatti lo sviluppo ifico del fungo. Le ife sono lunghe, settate a intervalli irregolari (43,2 - 24 μ) a citoplasma ialino o ialino - granuloso dello spessore di 2,4 - 3,6 μ, con tratti interifali nel punto di settazione modicamente sporgenti, dando così l'aspetto di una « canna di bambù » all'ifa. Solo poche ife presentano fatti di artrosporulazione e in tal caso nella porzione terminale dell'ifa.

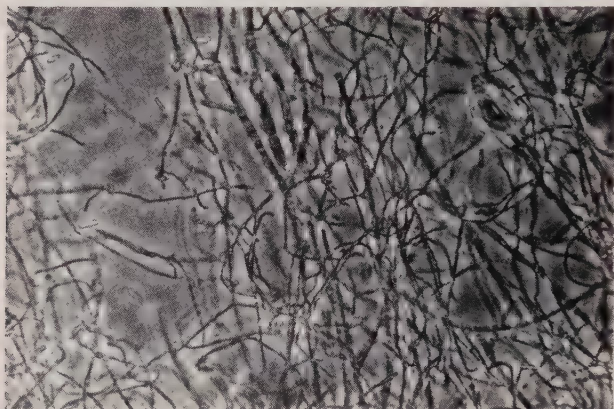


Fig. 3
Aspetto della vegetazione miceliare di *Geotrichum candidum* nel suo sviluppo intraplacentare della bacca di pomodoro

Tale aspetto morfologico tende a modificarsi nella porzione placentare della bacca: le ife miceliali sono ancora sottili, ma tendono a trasformarsi parzialmente in artrospore prevalentemente allungate e sottili (8 - 16 × 3,2 μ).

Nelle cavità interne, allo sviluppo miceliare del fungo, corrisponde morfologicamente un aspetto quasi analogo a quello riscontrato per lo sviluppo del fungo in superficie e pertanto si riscontra uno sviluppo prevalentemente artrosporeo con artrospore piuttosto lunghe e sottili.

Inoculazione con *Geotrichum candidum*, ceppo etichettato *Mycoderma lactis*.

Nel punto di inoculo si sviluppa una colonia piana color crema, opaca, cotonosa. Il pericarpo, in sezione longitudinale, si presenta interessato in tutto il suo spessore da un processo di disfacimento con inbrunimento del tessuto. Tale processo si propaga nella sottostante zona di placenta interessando i semi e parzialmente i setti. Le caratteristiche morfologiche del fungo, in tutte le sue sedi di sviluppo, sono analoghe a quelle descritte per *G. candidum*. Prevalente artrosporulazione del fungo nel suo sviluppo superficiale; mancata o scarsa artrosporulazione nel tratto intrapericarpico e placentare per sviluppo ifico del fungo in questa sede. Le dimensioni e forme delle artrospore concordano con i valori precedenti.

Inoculazione con *Geotrichum candidum*, ceppo etichettato *Geotrichum matalense*.

Nel punto di inoculo, già dopo 2 giorni, si nota lo sviluppo di una colonia pelosa, bianca. La crescita è rapida e dopo 8 giorni la colonia raggiunge il diam. di 1 cm., color crema, opaca a tenacità mucoide. Un carattere distintivo dagli altri ceppi, è rappresentato dall'emanazione di un aroma etereo particolare. La manifestazione del marciume è in queste bacche più marcato ed esteso che non in *G. candidum*. In sezione longitudinale, la bacca presenta analoghe caratteristiche macroscopiche di invasione del fungo e di marciume della bacca.

Anche la morfologia del fungo è identificabile con *G. candidum* sia nel suo sviluppo in superficie, intrapericarpico che profondo.

Inoculazione con *Trichosporon pullulans*.

Inoculo positivo dopo 3 giorni con formazione di una colonia bianca, opaca, plumosetta, molto sviluppata ed irregolarmente plicata.

In sezione longitudinale la bacca si presenta interessata per 1/4 circa dal caratteristico marciume color brunastro che dal punto di inoculo invade il pericarpo e la placenta sottostante. I caratteri morfologici di questa specie, per quanto è possibile dedurre dall'osservazione microscopica, quadrano bene con quelli da noi descritti in una precedente nota (Caretta 1960) pur notandosi quivi un

minor polimorfismo delle artrospore. Queste infatti sono prevalentemente rettangolari ad angoli smussati sottili ed allungati. (4,8 - 16 × 2,4 - 3,2 μ).

Non si sono avuti risultati positivi nell'inoculazione con le seguenti specie e ceppi: *Geotrichum rotundatum*; *G. rugosum*; *G. suaveolens*; *G. amycelicum*; *G. javanense*; *G. versiforme*; *G. hirtum*; *Mycoderma pulmoneum*; *Magnusiomyces ludwigii*; *Coremiella cuboidea*.

La crescita del fungo appariva limitata alle regioni vicine al punto di inoculo per un'area che non superava 1 cm. Sul punto di inoculo si formava una colonia bianca di forma approssimativamente circolare. Solo verso il 10° o 15° giorno si notava un piccolo callo di cicatrizzazione senza la comparsa di macchie nere. In nessuno dei frutti si ebbe l'attecchimento del fungo in profondità, sicchè in sezione longitudinale la bacca appariva normale.

DISCUSSIONE DEI RISULTATI E CONCLUSIONI

Premesso che tutti i funghi artrosporei da noi saggiati sono capaci di crescere nel succo di pomodoro, ma che soltanto quelli patogeni si sviluppano nella profondità del frutto e preferenzialmente nella zona dei fasci fibrovascolari della placenta, si conferma la patogenicità del *Geotrichum candidum*.

Indirettamente si riconferma pure in tal modo, non solo l'identità del ceppo da noi ricevuto come *Mycoderma lactis* con il *G. candidum*, ma anche l'identità del *G. matalense* con *G. candidum*. Questo è un punto che desideriamo sottolineare in quanto vi fu in passato qualche discussione circa la reale identità di *G. matalense* (confr. Caretta, 1959).

D'altro canto anche in *G. candidum* esistono ceppi virulenti per il pomodoro e ceppi avirulenti. Tale è il caso di *G. javanense*, il quale dal punto di vista colturale e morfologico è un tipico *G. candidum* mentre non è patogeno per il pomodoro.

Il *Trichosporon pullulans* è patogeno per il frutto del pomodoro alla stessa stregua di *G. candidum*, ed è, dopo questo, la sola specie patogena tra quelle da noi inoculate. Questo reperto non è privo di interesse in quanto sottolinea le affinità di *Trichosporon pullulans* con le specie del genere *Geotrichum* e in un certo senso conferma le viste da noi precedentemente espresse (Caretta, 1960).

Questa specie è la forma conidica di *Magnusiomyces* che nel ceppo ascoforo da noi inoculato non è risultato patogeno per le bacche di pomodoro. Ciò starebbe ad indicare che la patogenecità è legata alla forma imperfetta di fruttificazione del fungo. Il fatto che *Coremiella cuboidea*, pur così affine morfologicamente a *G. candidum*, non sia patogena per il pomodoro, conferma indirettamente la separazione sistematica dei due generi (confr. Caretta, 1960).

Mycoderma pulmoneum, almeno nel ceppo da noi esaminato, pare essere una specie del genere *Candida* e come tale non patogena per il pomodoro.

Laboratorio Crittogamico presso l'Istituto Botanico dell'Università di Pavia.

RIASSUNTO

Sono stati inoculati, in bacche di pomodoro mature, ceppi di *G. candidum* e di funghi artrosporei affini a *Geotrichum*. Si sono dimostrati patogeni con riproduzione del tipico marciume acquoso, tutti i ceppi di *Geotrichum candidum* con eccezione del ceppo etichettato *G. javanense* che pure è morfologicamente indistinguibile da *G. candidum*. Anche *Trichosporon pullulans*, forma imperfetta di *Magnusiomyces ludwigii*, si è mostrato patogeno riproducendo la stessa sintomatologia di *G. candidum*. Tutte le altre specie del genere *Geotrichum* (*G. rotundatum*, *G. rugosum*, *G. suaveolens*, *G. amycelicum*, *G. hirtum*, *G. versiforme*) non sono patogene, come non lo è *Coremiella cuboidea*.

SUMMARY

On ripe tomato fruits, several strains of *G. candidum* and species of arthrosporaceous fungi near *Geotrichum*, were inoculated.

All strains of *G. candidum* (with exception of the so-called *G. javanense*, morphologically identic to *G. candidum*) were pathogenic, reproducing the typical « watery rot ». In addition, *Trichosporon pullulans* (considered the imperfect stage of *Magnusiomyces ludwigii*) has been pathogenic, producing the same symptomatology.

The other species inoculated (*G. rotundatum*, *G. rugosum*, *G. suaveolens*, *G. amycelicum*, *G. hirtum*, *G. versiforme*) were not pathogenic, nor *Coremiella cuboidea*.

LETTERATURA CITATA

BUTLER E. (1960) — Pathogenicity and Taxonomy of *Geotrichum candidum*. *Phytopathology*, **50**, 665-672.

CARETTA G. (1959) — Caratteristiche morfo-biologiche di ceppi fungini del genere *Geotrichum* isolati da materiale umano. *Mycopath. et Mycol. Appl.*, **11** (3), 217-237.

ID. (1960) — *Coremiella cuboidea* (Sacc. et Ell.) Cif. et Car. n. comb. isolata da feci umane. *Mycopath. et Mycol. App.*, **12** (3), 233-250.

ID. (1960) — Riconvalidazione di *Geotrichum suaveolens* (Lindn.) Cif. *Atti Ist. Bot. Lab. Critt. Pavia*, serie 5, **19**, 1-7.

ID. (1960) — *Trichosporon pullulans* e la sua forma ascofora *Magnusiomyces* Ludwigii. *Ibidem*, 22-38.

CIFERRI R. e BALDACCI G. (1933) — Sulle Batteriosi, Fusariosi, Geotricosi e sul Marciume apicale dei frutti di pomodoro. *Atti Ist. Bot. R. Univ. Pavia*, Serie IV (4), 204-280.

CIFERRI R. e CARETTA G. (1961) — Revisione del genere *Polyscytalum* Riess. *Mycopath. et Mycol. Appl.* (in corso di stampa).

PEGLION V. (1922) — Le malattie crittogamiche delle piante coltivate, IV ed., p. 341-346 (Casale Monferrato).

PEROTTI R. e CRISTOFOLETTI U. (1914) — Sopra una tacca nero-olivacea dei frutti di pomodoro causata dal *Cladosporium herbarum*. *Staz. Sperim. Agrarie Ital.*, **47**, 169-216.

POOLE A. F. (1922) — A new fruit rot of tomatoes. *Botan. Gaz.*, **74**, 210-214.

PRITCHARD F. J. and PORTE W. S. (1923) — Water-rot of tomato fruits. *J. Agr. Research*, **24**, 895-906.

WEBER G. F. and RAMSEY G. B. (1926) — Tomato disease in florida. *Fla. Agr. Expt. Sta. Bull.*, 185, 138.

WEI C. T. and CHEO P. C. (1944) — Diseases of tomato in the vicinity of Chengtu. *Chin. J. Agr. Sci.*, **4**, 288-291. (In *Rev. Applied. Mycol.*, **25**, 368).

LISTA DELLE PERONOSPORACEE ITALIANE

R. CIFERRI

La recente, malaugurata introduzione in Italia dell'agente della « muffa blu » o « peronospora » del tabacco (*Peronospora tabacina* Ad.) ha riacceso l'interesse dei tecnici agricoli e degli agricoltori intorno alle specie del genere *Peronospora* Corda presenti nella nazione. Da più parti ci sono pervenuti, infatti, esemplari di piante spontanee affette da Peronosporacee, nel sospetto che potesse trattarsi della « peronospora » del tabacco.

In effetti, per quel che ci consta, non è mai stata pubblicata una lista delle specie del genere *Peronospora* identificate in Italia anche su piante spontanee, e gli usuali manuali di patologia vegetale limitano la trattazione alle specie viventi su piante coltivate o comunque d'importanza economica. Altrettanto dicasi per gli altri generi di Peronosporacee (in senso stretto).

Poichè questo fatto rende meno agevole il riconoscimento delle specie italiane viventi su piante spontanee, abbiamo creduto opportuno pubblicare questo elenco che parte, naturalmente, dalla classica monografia del Berlese (1). Ci siamo però basati, soprattutto, nelle monografie del Gäumann (2) e del Gustavson (3), pur tenendo in conto altri recenti contributi, tra i quali, principalmente, quelli di Savulescu (4) e di Buhr (5) (6). Per le altre Peronosporacee ci

---

(1) Berlese A. N. (1904) — *Saggio di una monografia delle Peronosporacee.* Riv. Patol. Veg., **10**, 185-295.

(2) Gäumann E. (1923) — *Beiträge zu einer Monographie der Gattung* Peronospora *Corda.* Zürich.

(3) Gustavson (1959) — *Studies on Nordic* Peronosporas. *I. - Taxonomic revision.* Stockholm.

(4) Savulescu T. (1948) — *Les espèces de* Peronospora *Corda de Roumanie.* Sydowia, **2**, 255-307.

(5) Buhr H. (1956) — *Zur Kenntnis der Peronosporaceen Mecklenburgs.* Arch. Freunde Natur. Mecklenburg, **2**, 109-243.

(6) Non si sono potute consultare le monografie di Jaczewsky A. A. (1901), *Peronosporae* (in russo) e di Jaczewsky A. A. e P. A. (1931), *Ficomiceti* (in russo).

siamo avvalsi di varie opere, prima quella di SAVULESCU e SAVULESCU [7].

Se possiamo ragionevolmente presumere che tutte le specie italiane di Peronosporacee siano elencate nella presente lista, non siamo altrettanto sicuri di avervi compreso tutte le piante ospiti segnalate in Italia. Inoltre la mancata determinazione specifica delle piante ospiti — che in talune non recenti contribuzioni micologiche appaiono con l'indicazione del genere od anche solo della famiglia — rende incerta la presenza in Italia di certe specie.

Devesi inoltre tenere in conto il fatto che in Italia non vi sono stati micologi che si siano particolarmente dedicati allo studio di questo genere di funghi, soprattutto sotto il profilo della specializzazione biologica, e lo stesso BERLESE studiò le specie allora note sopratutto sotto il profilo della morfologia.

FAM. *PERONOSPORACEAE* DE BY.

I) *PERONOSPORA* Corda

1. - P. AESTIVALIS Syd. (Gäum., p. 200; Gust., p. 130).
   Su *Medicago sativa*.
2. - P. AFFINIS Rossmann (Gäum., p. 304; Gust., p. 77).
   Su *Fumaria officinalis*.
3. - P. AGROSTEMMATIS Gäum. (Gäum., p. 52; Gust., p. 56).
   Su *Agrostemma githago*.
4. - P. ALCHIMILLAE Otth (Gäum., p. 289; Gust., p. 123).
   Su *Alchemilla vulgaris* (= *A. silvestris*).
5. - S. ALPICOLA Gäum. (Gäum., p. 113; Gust., p. 67).
   Su *Ranunculus aconitifolius*, *R. pyrenaeus*, *R. seguieri*.
6. - P. ALSINEARUM Casp. (= *P. media* Gäum.) (Gäum., p. 59; Gust., p. 36).
   Su *Stellaria media*.
7. - P. ALTA Fuck. (Gäum., p. 307; Gust., p. 194).
   Su *Plantago lanceolata*, *P. major*.

[7] SAVULESCU T. e SAVULESCU O. (1951) — *Studiul morfologic, biologic si sistematic al genurilor* Sclerospora, Basidiophora, Plasmopara *si* Peronoplasmopara. Bul. Stiint. Ac. Rep. Pop. Rom., **3** (2), 327-427.

8. - P. AMARANTHI Gäum. (Gäum., p. 235).
Su *Amaranthus blitus.*

9. - P. ANTHEMIDIS Gäum. (Gäum., p. 126; Gust., p. 210).
Su *Anthemis arvensis.*

10. - P. APARINES (De By.) Gäum. (Gäum., p. 246; Gust., p. 201).
Su *Galium aparine.*

11. - P. AQUATICA Gäum. (Gäum., p. 160; Gust., p. 189).
Su *Veronica anagallis.*

12. - P. ARABIDOPSIDIS Gäum. (Gäum., p. 278; Gust., p. 107).
Su *Arabidopsis thaliana* (= *Stenophragma thalianum*).

13. - P. ARBORESCENS (Berk.) De By. (Gäum., p. 69; Gust. p. 70).
Su *Papaver dubium, P. rhoeas, P. Somniferum.*

14. - P. ARGEMONES Gäum. (Gäum., p. 72; Gust., p. 72).
Su *Papaver argemone* (sec. Ferraris; da confermare).

15. - P. ARVENSIS Gäum. (Gäum., p. 158; Gust., p. 189).
Su *Veronica hederifolia.*

16. - P. ASTRAGALINA Syd. (Gäum., p. 188; Gust., p. 142).
Su *Astragalus alpinus.*

17. - P. BERTEROAE Gäum. (Gäum., p. 258; Gust., p. 99).
Su *Berteroa incana.*

18. - P. BONI - HENRICI Gäum. (Gäum., p. 229; Gust., p. 28).
Su *Chenopodium bonus - henricus.*

19. - P. BRASSICAE Gäum. (Gäum., p. 260; Gust., p. 79).
Su *Brassica napus. B. oleracea, B. rapa, Raphanus sativus* (f. sp. *raphani* Gäum.). *R. raphanistrum, Sinapis arvensis. S. alba* (f. sp. *sinapidis* Gäum.).

20. - P. BULBOCAPNI Beck (Gäum., p. 80; Gust., p. 76).
Su *Corydalis cava.*

21. - P. CALOTHECA De By. (Gäum., p. 244; Gust., p. 198).
Su *Asperula odorata.*

22. - P. CAMELINAE Gäum. (Gäum., p. 260; Gust., p. 115).
Su *Camelina microcarpa, C. sativa.*

23. - P. CAMPESTRIS Gäum. (Gäum., p. 49; Gust., p. 48).
Su *Arenaria serpyllifolia.*

24. - P. CANDIDA Fuck. (Gäum., p. 88).
Su *Anagallis arvensis.*

25. - P. CHEIRANTHI Gäum. (Gäum., p. 267; Gust., p. 110).
Su *Cheiranthus cheiri* (= *Erysimum cheiri*), con ff. cult. (cfr. *P. matthiolae*).

26. - P. CHENOPODII Schlecht. (Gäum., p. 230; Gust., p. 24).
Su *Chenopodium album.*

27. - P. CHENOPODII - POLYSPERMI Gäum. (Gäum., p. 231; Gust., p. 29).
Su *Chenopodium polyspermum.*

28. - P. CHLORAE De By. (Gäum., p. 93).
Su *Chlora perfoliata.*

29. - P. CONFERTA (Ung.) Gäum. (Gäum., p. 65; Gust. p. 41).
Su *Cerastium holosteoides* (= *C. vulgatum;* = *C. triviale*).

30. - P. CONGLOMERATA Fuck. (Gäum., p. 99; Gust., p. 157).
Su *Geranium dissectum, G. molle* (var. *grandiflorum*), *G. pusillum.*

31. - P. CORONILLAE Gäum. (Gäum., p. 190).
Su *Coronilla scorpioides.*

32. - P. CORYDALIS - INTERMEDIAE Gäum. (Gäum., p. 82; Gust., p. 76).
Su *Corydalis fabacea.*

33. - P. CRISPULA Fuck. (Gäum., p. 274; Gust. p. 117).
Su *Reseda lutea.*

34. - P. CYPARISSIAE De By. (Gäum., p. 322; Gust., p. 159).
Su *Euphorbia cyparissia.*

35. - P. DEBARYI (Salm. et Warr) Vienn. - Bourg. (Gust., p. 14).
Su *Urtica urens* (sub *P. urticae*).

36. - P. DENTARIAE Rabh. (Gäum., p. 266; Gust., p. 102).
Su *Cardamine amara, C. hirsuta, C. impatiens, C. pinnata.*

37. - P. DESTRUCTOR (Berk.) Casp. et Berk. (= *P. schleideni* Unger) (Gäum., p. 305; Gust., p. 9).
Su *Allium cepa, A. fistulosum* (sec. Ferraris pure su *Lilium* e *Amaryllis;* da confermare).

38. - P. DIANTHI De By. (Gäum., p. 66).
Su *Tunica prolifera* (= *Dianthus prolifer*).

39. - P. DIANTHICOLA Barthelet (Gust. p. 60).
Su *Dianthus sinensis.*

40. - P. DIPSACI (Nees) Tul. (Gäum., p. 238; Gust., p. 205).
Su *Dipsacus silvestris.*

41. - P. DUCOMETI Siem. et Jankowska (Centr. Bakt., II Abth., vol. LXXVIII, p. 144 [1929]). (Jacz., p. 156; sub *P. fagopyri*).
Su *Fagopyrum esculentum.* (Segnalata, ma non da noi osservata, nelle annate piovose e nelle culture valtellinesi).

42. - P. EFFUSA (Grev.) Tul. (Gust., p. 29).
Su *Spinacia oleracea*, Chenopodiaceae indet.
43. - P. ERANTHIDIS (Pass.) A. Fisch. (Gäum., p. 107).
Su *Eranthis hiemalis*.
44. - P. EROPHILAE Gäum. (Gäum., p. 269; Gust., p. 101).
Su *Erophila verna* (= *Draba verna*).
45. - P. ERUCASTRI Gäum. (Gäum., p. 270).
Su *Eruca sativa*.
46. - P. ERYTHRAEAE (Kühn) Gäum. (Gäum., p. 94; Gust., p. 170).
Su *Erytraea centaurium*.
47. - P. FABAE Jacz. et Serguieva (Jacz., p. 155; Gust., p. 148).
Su *Faba vulgaris* (= *Vicia faba*). (Segnalazione unica non controllata; errore per *Botrytis*? cfr. *P. lagerheimii*).
48. - P. FICARIAE (Nees) Tul. (Gäum., p. 114; Gust., p. 61).
Su *Ficaria verna* (= *Ranunculus ficaria*; = *Ficaria ranunculoides*).
49. - P. FLAVA Gäum. (Gäum., p. 151; Gust., p. 182).
Su *Linaria vulgaris*.
50. - FRAGARIAE Roze et Cornu (Gäum., p. 209).
Su *Fragaria vesca*, *Fragaria* hybr. pl.
51. - P. FULVA Syd. (Gäum., p. 195; Gust., p. 149).
Su *Lathyrus pratensis*.
52. - P. GALII Fuck. (Gäum., p. 247; Gust., p. 199).
Su *Galium ? aparines*, *G. mollugo*.
53. - P. GRISEA Ung. (Gäum., p. 160; Gust., p. 187).
Su *Veronica beccabunga*, *V. serpyllifolia*, *V.* sp.
54. - P. HIEMALIS Gäum. (Gäum., p. 111; Gust., p. 63).
Su *Ranunculus acer*.
55. - P. HOLOSTEI Casp. in Rabh. ex De By (Gust., p. 46).
Su *Holosteum umbellatum*.
56. - P. INSUBRICA Gäum. (Gäum., p. 243).
Su *Galium perpureum*.
57. - P. KNAUTIAE Fuck. (Gäum., p. 238; Gust., p. 205).
Su *Knautia arvensis*, *K. silvatica*, ? *Scabiosa lucida* (cfr. *P. violacea*).
58. - P. LAGERHEIMII Gäum. (Gäum., p. 222).
Su *Faba vulgaris* (= *Vicia faba*) (sec. Ferraris; da confermare; cfr. *P. fabae*).

59\. - P. LAMII A. Br. (Gäum., p. 137; Gust., p. 176).
Su *Lamium album, L. amplexicaule, L. maculatum, L. purpureum, L.* sp.

60\. - P. LATHYRI - VERNI Gust. (Gust., p. 151).
Su *Lathyrus vernus.*

61\. - P. LEPIDII (McAlp.) Wils. (= *P. lepidii - sativi* Gäum.) Gäum., p. 271; Gust., p. 86).
Su *Lepidium sativum* (= *Orobus vernus*).

62\. - P. LEPTOCLADA Sacc. (Gäum., p. 74; Gust., p. 160).
Su *Helianthemum guttatum.*

63\. - P. LEPTOSPERMA (De By.) Gäum. (Gäum., p. 129; Gust., p. 212).
Su *Matricharia chamomilla, M. ? mixta.*

64\. - P. LOTORUM Syd. (Gäum., p. 199; Gust., p. 141).
Su *Lotus* sp. (prob. *L. corniculatus;* sec. Ferraris, da confermare).

65\. - P. LUNARIAE Gäum. (Gäum., p. 273; Gust., p. 96).
Su *Lunaria annua.*

66\. - P. LYCHNITIS Gäum. (Gäum., p. 54).
Su *Lychnis coronaria.*

67\. - P. MATTHIOLAE Gäum. (Gäum., p. 273; Gust., p. 109).
Su *Matthiola incana* (= *Cheiranthus annuus*) (cfr. *P. cheiranthi*).

68\. - P. MAYORII Gäum. (Gäum., p. 217; Gust., p. 146).
Su *Vicia angustifolia, V. crassa.*

69\. - P. MEDIA Gäum. (Gäum., p. 59).
Su *Stellaria media.*

70\. - P. MELADRII Gäum. (Gäum., p. 54; Gust., p. 59).
Su *Melandrium album, Lychnis coronaria* (da confermare).

71\. - P. MELILOTI Syd. (Gäum., p. 203; Gust., p. 132).
Su *Melilotus albus, M. indica, M. officinalis, M.* sp.

72\. - P. MINOR (Casp.) Gäum. (= *P. atriplicis - hortensis* Sav. et Rayss) (Gust., p. 32).
Su *Atriplex hortensis.*

73\. - P. MURALIS Gäum. (Gäum., p. 223).
Su *Chenopodium murale.*

74\. - P. MYOSOTIDIS De By. (Gäum., p. 171; Gust., p. 173).
Su *Myosotis arvensis, M. hispida, M. intermedia, M. palustris.*

75. - P. NARBONENSIS Gäum. (Gäum., p. 216).
Su *Vicia narbonensis.*

76. - P. NIESSLEANA Berl. (Gäum., p. 252; Gust., p. 112).
Su *Alliaria officinalis* (= *Alliaria alliaria*).

77. - P. OBOVATA Bon. in Rabh. (Gust., p. 51).
Su *Spergula arvensis.*

78. - P. OCHROLEUCA Cesati (Gäum., p. 280; Gust., p. 107).
Su *Turritis glabra.*

79. - P. OERTELIANA Kühn (Gäum., p. 89).
Su *Primula acaulis.*

80. - P. ONONIDIS Wilson (Gäum., p. 205; Gust., p. 127).
Su *Ononis repens.*

81. - P. PARASITICA (Pers) Fries (Gäum., p. 263; Gust., p. 89).
Su *Capsella bursa-pastoris, C. pauciflora* (?), etc. (?).

82. - P. PHYTEUMATIS Fuck. (Gäum., p. 300; Gust., p. 209).
Su *Phyteuma orbiculare.*

83. - P. POLYGONI Thüm. ex A. Fischer (Gäum., p. 324; Gust., p. 18).
Su *Polygonum aviculare.*

84. - P. POLYGONI-CONVOLVULI Gust. (Gust., p. 19).
Su *Polygonum convolvulus.*

85. - P. PISI Syd. (Gäum., p. 209; Gust., p. 154).
Su *Pisum sativum.*

86. - P. POTENTILLAE De By. (Gust., p. 121).
Su *Potentilla* sp. (sec. Ferraris; da confermare), *Poterium sanguisorba* (id.).

87. - P. PRATENSIS Syd. (Gäum., p. 213; Gust., p. 135).
Su *Trifolium incarnatum, T. medium, T. pratense,* (*T. subterraneum*?).

88. - P. PULVERACEA Fuck. (Gäum., p. 109; Gust., p. 68).
Su *Helleborus foetidus, H. niger.*

89. - P. RADII De By.
Su *Matricaria racutita* (= ? *Chrysanthemum leucanthemum*), fide Belosersky, *M. inodora.*

90. - P. RANUNCULI Gäum. (Gäum., p. 116; Gust., p. 63).
Su *Ranunculus acris, R. bulbosus, R. repens, R. velutinus.*

91. - P. RHAETICA Gäum. (Gäum., p. 251).
Su *Sisymbrium strictissimum* (da confermare).

92. - P. ROMANICA Savul. et Rayss apud Savul. (Ann. Mycol., vol. XXX, p. 371 [1932]) (Gust., p. 132).
Su *Medicago falcata,* ? *M. lupulina.*

93\. - P. RUBIAE Gäum. (Gäum., p. 250).
Su *Rubia tinctorum.*

94\. - P. RUBI Rabenh. (Gäum., p. 287; Gust., p. 120).
Su *Rubus* sp. (Su *Rosa* spp. pl. et hybr. si ha la *Pseudoperonospora sparsa* (Berk.) Jacz., che non sembra essere stata segnalata in Italia).

95\. - P. RUMICIS Fuck. (Gäum., p. 322; Gust., p. 15).
Su *Rumex acetosa, R. acetosella, R. patientia, R. lunaria, R.* sp.

96\. - P. SCHACHTII Fuck. (= *P. betae* Kühn) (Gäum., p. 312; Gust., p. 22).
Su *Beta vulgaris* (et varr. pl.).

97\. - P. SCLERANTHI Rabh. (Gäum., p. 55; Gust., p. 54).
Su *Scleranthus annuus.*

98 - P. SENNENIANA Frag. et Sacc. (Gust., p. 153).
Su *Lathyrus niger* (= *Orobus niger*).

99\. - P. SEPIUM Gäum. (Gäum., p. 220; Gust., p. 148).
Su *Vicia sepium.*

100\. - P. SHERARDIAE Fuck. (Gäum., p. 249; Gust., p. 197).
Su *Sherardia arvensis.*

101\. - P. SILENES Wils. (= *P. vexans* Gäum.) (Gäum., p. 50; Gust., p. 57).
Su *Silene arenaria.*

102\. - P. SILVATICA Gäum. (Gäum., p. 248; Gust., p. 198).
Su *Galium silvaticum.*

103\. - P. SISYMBRII - OFFICINALIS Gäum. (Gäum., p. 276; Gust., p. 113).
Su *Sisymbrium officinale.*

104\. - P. SORDIDA Berk et Br. (Gäum., p. 153).
Su *Scrophularia nodosa.*

105\. - P. SPINACIAE Laubert (Gäum., p. 231; Gust., p. 29).
Su *Spinacia oleracea.*

106\. - P. STACHYDIS Syd. (Gäum., p. 140; Gust., p. 178).
Su *Stachys palustris.*

107\. - P. SULFUREA Gäum. (Gäum., p. 128; Gust., p. 216).
Su *Artemisia comphorata* (var. *canescens*).

108\. - P. SYMPHYTI Gäum. (Gäum., p. 173; Gust., p. 172).
Su *Symphytum bulbosum, S. tuberosum.*

109\. - P. SWINGLEI Ell. et Kell. (Gäum., p. 138).
Su *Salvia* sp. (da confermare).

110. - P. TABACINA Adams
Su *Nicotiana glauca, N. rustica, N. tabacum, N.* sp. et hybr. pl.; ? *Capsicum annuum.*

111. - P. THLASPEOS - ARVENSIS Gäum. (Gäum., p. 279; Gust., p. 87).
Su *Thlaspi* sp. (*T. arvense*, sec. Ferraris; da confermare).

112. - P. TOMENTOSA Fuck. (Gäum., p. 61; Gust., p. 44).
Su *Cerastium glomeratum.*

113. - P. TRIBULINA Pass. (Gäum., p. 311).
Su *Tribulus terrestris.*

114. - P. TRIFOLII - ARVENSIS Gäum. (Gäum., p. 211).
Su *Trifolium arvense.*

115. - P. TRIFOLII - MINORIS Gäum. (Gäum., p. 212; Gust., p. 139).
Su *Trifolium campestre, T. patens.*

116. - P. TRIFOLII - PRATENSIS Gust. (Gust., p. 136).
Su *Trifolium pratense.*

117. - P. TRIFOLII - REPENTIS Syd. (Gäum., p. 215; Gust., p. 140).
Su *Trifolium repens.*

118. - P. TRIVIALIS Gäum. (Gäum., p. 63).
Su *Cerastium caespitosum* (= *C. triviale*).

119. - P. VALERIANAE Trail (Gäum., p. 316; Gust., p. 203).
Su *Valeriana officinalis.*

120. - P. VALERIANELLAE Fuck. (Gäum., p. 316; Gust., p. 203).
Su *Valerianella olitoria,* ? *V. locusta.*

121. - P. VARIABILIS Gäum. (Gäum., p. 226).
Su *Chenopodium album.*

122. - P. VERBASCI Gäum. (Gäum., p. 154; Gust., p. 181).
Su *Verbascum densiflorus, V. thapsiforme* (o *V. thapsus*?).

123. - P. VERNA Gäum. (Gäum., p. 156).
Su *Veronica chamaedrys, V. serpyllifolia, V. verna,*

124. - P. VEXANS Gäum. (Gäum., p. 50).
Su *Silene inflata.*

125. - P. VICIAE (Berck.) Gäum. (Gäum., p. 305; Gust., p. 143).
Su *Vicia* sp. (prob. *V. angustifolia*); *Ervilia lens* (sec. Ferraris; da confermare).

126. - P. VICIAE - SATIVAE Gäum. (Gäum., p. 219; Gust., p. 143).
Su *Vicia sativa.*

127. - P. VIOLACEA Berl. (Gäum., p. 239; Gust., p. 206).
Su *Knautia arvensis*, ? *Scabiosa lucida* (cfr. *P. knautiae*).
128. - P. VIOLAE De By. (Gäum., p. 313; Gust., p. 165).
Su *Viola arvensis*, *V. tricolor*.

II) *BASIDIOPHORA* Roze et Cornu

1. - B. ENTOSPORA Roze et Cornu (Savul., p. 326).
p. 326).
Su *Erigeron canadensis*.

III) *BREMIA* Regel

1. - B. CENTAUREAE Syd.
Su *Centaurea cyanus*, *C. jacea*, *C. nigrescens*, *C.* sp.
2. - B. CINERARIAE n. sp.

Nei nostri erbari sono presenti due esemplari etichettati come *B. lactucae* su « Cineraria hybrida » (*Senecio hybridum*), uno raccolto nel giardino botanico di Pavia da Cavara nel 1881, e l'altro senza località, nome del raccoglitore ed anno.

In realtà vi sono piccole differenze tra *B. lactucae* sull'ospite tipo e il fungo su *Senecio*, dove i conidiofori sono spesso isolati, di solito dicotomi e comunque mai sino a 6-ramosi; la vescicola apicale è poco visibile e di solito 2-3-papillata, mai con più papille (sino ad 8 nell'ospite tipo); i conidi sono un poco minori e pure le ospore sono tali.

Inoltre è probabile che il fungo sia specializzato sul *Senecio* coltivato, ma poichè queste piante sono coltivate discontinuamente nel giardino botanico di Pavia, forse la specie vivente sulle *Cinerariae* è scomparsa dopo il periodo di raccolta da parte di Cavara. Inoltre mentre *B. lactucae* su varietà e specie in cultura di *Lactuca* è presente molto spesso nelle primavere umide, il fungo non affetta le piante di *Cineraria* che sono in cultura simultaneamente.

B. CINERARIAE, n. sp.

Maculis foliaribus intervenalibus, venulis limitatis, in pagina superiore foliorum, siccitosis, in inferiore albidulis, dein siccitosis, singulis dein confluentibus, 2-3 usque 10 mm et

ultra latis, nunquam perforatis; caespitulis effusis, latiusculis, albidis; conidiophoris plerumque singulis, usque binis ternatisque, erectis vel suberectis, tertio superiore ramosis, pro more dichotomis, 200 - 500 μ longis, 8 - 12 μ latis, sursum leviter attenuatis, prope apicem confuse intertextis, superne leviter vesiculatis, ramulis principalibus 30 - 50 μ longis, prope basem 3 - 4 latis, apicem 2,5 - 3,5 μ, vesicula parum manifesta subglobosa vel irregularia, 6 - 10 μ lata; vesicula e facie superiore papillata, papillis 2 - 3, rarius pluribus, divaricatis, conoideotruncatis, rectis vel curvatis, 2 - 5 μ latis, 2 - 3,5 μ crassis; conidiis apice papillarum solitariis, sphaeroideis vel late ovatis, non vel leviter umbonatis (papillatis), pro more 12 - 16 × 7 - 9 μ; oosporis paucis, globosis, pallido - flavis, tunica 2,5 - 4 μ crassa, levia, intus granulosis, pro more 30 - 40 μ diam. Probabiliter biologicae distinguenda.

Hab.: in foliis vivis « Cinerariae » cult. (*Senecii hybridi*), Horti Botan. Ticinensis, Apr. 1881, leg. F. Cavara (N. 23); ibid. sine data.

3. - B. LACTUCAE Regel.
Su *Arctium lappa*, *Cirsium arvense*, *C. oleraceum*, *Cichorium endiviae*, *C. intybus*, *Cynara scolymus*, *C. cardunculus*, *Hieracium* sp., *Hypochaeris radicata*, *Lactuca sativa*, ? *L. serriola*, (= *L. scariola*), *Picris hieracioides*, *Sonchus oleraceus*, *Taraxacum officinale* (vari ospiti sono incerti o da riconfermare).

4. - B. LAPSANAE Gäum.
Su *Lapsana communis*.

5. - B. SONCHI Sawada.
Su *Sonchus arvensis*, *S. oleraceus*, *S.* sp.

6. - B. TULASNEI (Hoffm.) Sydow.
Su *Senecio vulgaris*.

IV) *PERONOPLASMOPARA* Clint.

1. - P. CANNABINA (Otth) Peglion (Savul., p. 433).
Su *Cannabis sativa*.

2. - P. CUBENSIS (Berk. et C.) Clinton (Savul., p. 439).
Su *Citrullus vulgaris*, *Cucurbita pepo*, *C.* spp. pl., *Cucumis anguria*, *C. melo*, *C. sativus*.

3. - **P. ERODII** (Fuck.) n. comb.
   = *Peronospora erodii* Fuck., Symb. Mycol., p. 68 (1869).
   Su *Erodium cicutarium* [citata come *Pseudoperonospora erodii* (Fuck.) Wils], *E. malacoides* (come *Peronospora erodii*)
4. - P. HUMULI Miyabe et Tak. (Savul., p. 435).
   Su *Humulus lupulus*.
5. - P. URTICAE (Lib.) Savul. (Savul., p. 442).
   Su *Urtica dioica* (una generica segnalazione su *Urtica* potrebbe includere la *Peronospora debaryi* Salm. et Warr., che vive su *U. urens*).

V) *PLASMOPARA* Schroeter

1. - P. AEGOPODII (Casp.) Trott. (Savul., p. 389).
   Su *Aegopodium podagraria*.
2. - P. ANEMONES - NEMOROSAE Savul. et Savul. (Savul., p. 344).
   Su *Anemone nemorosa*.
3. - P. ANEMONES - RANUNCULOIDIS Savul. et Savul. (Savul., p. 343).
   Su *Anemone ranunculoides*.
4. - P. ANGELICAE (Casp.) Trott. (Savul., p. 371).
   Su *Angelica silvestris*.
5. - P. APII Savul. et Savul. (Savul., p. 388).
   Su Apium graveolens.
6. - P. CHAEROPHYLLI (Casp.) Trott. (Savul., p. 391).
   Su *Anthriscus cerefolium, ? A. silvestris*.
7. - **P. CONII** (Wart.) n. comb.
   = *P. nivea* var. *conii* Warttenweiler [Ann. Mycol., vol. XVI, p. 292 (1928)].
   Su *Conium maculatum*.
8. - P. DAUCII Savul. et Savul. (Savul., p. 376, 392).
   Su *Daucus carota*.
9. - P. DENSA (Rabh.) Schr. (Savul., p. 352).
   Su *Alectorolophus crista - galli* (= *Rhinanthus crista - galli*), *A. minor* (= *R. minor*).
10. - P. GERANII - PRATENSIS Savul. et Savul. (Savul., p. 352).
   Su *Geranium pratensis*.

11. - P. GERANII-SILVATICI Savul. et Savul. (Savul., p. 352).
Su *Geranium silvaticum* (da confermare).
12. - P. HALSTEDII (Farl.) Berl. et De Toni (Savul., p. 409).
Su *Solidago virgaaurea* (da riconfermare).
13. - P. MEI-FOENICULI Savul. et Savul. (Savul., p. 379).
Su *Foeniculum vulgare* (= *F. officinale*).
14. - P. NIVEA (Ung.) Schr. (s. lato).
Su Umbelliferae varie (cfr. le singole specie).
15. - P. PASTINACAE Savul. et Savul. (Savul., p. 183).
Su *Pastinaca sativa*.
16. - P. PETROSELINI Savul. et Savul. (Savul., p. 387).
Su *Petroselinum sativum*.
17. - P. PIMPINELLAE Savul. et Savul. (Savul., p. 362).
Su *Pimpinella anisum*, *P. majus* (= *P. magna*).
18. - P. PUSILLA (De By.) Schr. (Savul., p. 348).
Su *Geranium nodosum*, *G. pratense*.
19. - P. PYGMAEA (Ung.) Schr.
Su *Anemone apennina*, *Hepatica triloba* (= *Anemone hepatica*) (da riconfermare).
20. - P. RIBICOLA Schr.
Su *Ribes rubrum* (da confermare).
21. - P. SPHAEROSPERMA Savul. (Savul., p. 425).
Su *Tragopogon dubius* subsp. *major*, *T. pratensis*.

Questa specie è stata descritta da Savulescu (Bull. Sect. Sci. Acad. Roum., vol. XXIV, n. 1, 1941) e confermata dieci anni dopo (Bull. Stiint., vol. III, p. 429, 1951).

Studiando l'esemplare di Passerini (Erb. Critt. Ital., ser. II, n. 985), etichettato *Bremia lactucae* possiamo riconfermare che questa specie è realmente una *Plasmopara* e non una *Bremia*. Una confusione è possibile perchè i ramuscoli conidiofori apicali sono cortissimi, mentre le espansioni delle ramificazioni d'ordine superiore, che portano i rametti conidiogeni, possono simulare un ingrossamento disciforme.

22. - P. VITICOLA (Berk. et C.) Berl. et De Toni (Savul., p. 400).
Su *Vitis labrusca*, *V. riparia*, *V. vinifera*, *V. vulpina*, etc.

VI) *SCLEROSPORA* Schroet.

1. - S. GRAMINICOLA (Sacc.) Schr. (Savul., p. 331).
Su *Setaria glauca*, *S. italica*, *S. viridis*, *S. verticillata*.

2. - S. MACROSPORA Sacc.
Su *Alopecurus agrestis, Avena sativa, Agropyrum repens, Festuca elatior, Holcus lanatus, Lolium temulentum, Oryza sativa, Panicum crus-galli, Phragmites communis, Triticum aestivum, Zea mays.*

INDICE DEI GENERI DELLE PIANTE OSPITI

(I numeri a fianco dei nomi dei generi di Peronosporaceae indicano la specie)

RIASSUNTO

La presente lista elenca le specie di Peronosporaceae segnalate per l'Italia. Sono così indicate spp. 130 di *Peronospora*; 1 di *Basidiophora*; 6 di *Bremia*; 5 di *Peronoplasmopara*; 22 di *Plasmopara*; 2 di *Sclerospora*.

E' descritta la nuova specie *Bremia cinerariae* su *Senecio hybridum*, segregata da *B. lactucae*, e sono proposte le nuove combinazioni *Peronoplasmopara erodii* per la *Peronospora erodii* e *Plasmopara conii* per la *P. nivea* var. *conii*. L'identità di *Plasmopara sphaerosperma* è riconfermata.

Chiude la lista un indice dei generi di piante ospiti.

SUMMARY

The species of Peronosporaceae found in Italy is listed. The numbers are: 130 of *Peronospora*; 1 of *Basidiophora*; 6 of *Bremia*; 5 of *Peronoplasmopara*; 22 of *Plasmopara* and 2 of *Sclerospora*.

The new specie *Bremia cinerariae* on *Senecio hybridum* cult., segregated from *B. lactucae*, is described on Cavara's material. The new combinations of *Peronoplasmopara erodii* for *Peronospora erodii* and *Plasmopara conii* for *P. nivea* var. *conii* are proposed. The identity of *Plasmopara sphaerosperma* is reconfirmed.

A list of host plants is appended.

Laboratorio Crittogamico dell' Università di Pavia.

COMPOSIZIONE CHIMICA E PROPRIETÀ FARMACOLOGICHE DI SCLEROZI DI « *SCLEROTIUM ROLFSII* »

Nota I

PAOLO ALGHISI, TITO BERTI e GIULIANA FASSINA

Rolfs (1893), verso la fine del secolo scorso, segnalò un'alterazione del pomodoro in Florida (U.S.A.) causata da un fungo che Saccardo (1911) ha chiamato *Sclerotium rolfsii.*

Successivamente a queste prime notizie numerose sono state le ricerche sulla fisiologia e biologia del fungo e ciò a causa dei gravi danni che esso produce a svariate colture agrarie e della estesa area geografica che lo annovera come temibile parassita.

Inviando il lettore desideroso di dettagliate notizie all'abbondante bibliografia esistente sull'argomento, sembra utile qui ricordare che alcuni tra i più significativi lavori sulla fisiologia del fungo si devono a Higgins (1927), Robbins e coll. (1938), Epps e coll. (1951), Johnson e coll. (1954), che hanno studiato l'influenza di molteplici fattori chimici e fisici sullo sviluppo del micete e sulla produzione di sclerozi ad opera dello stesso.

Piuttosto scarse sono invece le indagini biochimiche fino ad oggi effettuate sullo *Scl. rolfsii;* esse riguardano principalmente la sua capacità di produrre « in vitro » e « in vivo » complessi enzimatici (Taubenhaus, 1919; Edson e coll., 1923; Paintin, 1928; Milthorpe, 1941; Johnson e coll., l. c.; Husain, 1958) o composti particolari come acido ossalico (Higgins, l. c.) e tiamina (Robbins e coll., l. c.; Kavanagh, 1942).

La maggioranza degli autori che hanno studiato la sintesi dei ricordati composti ha anche tentato di interpretare il ruolo da essi sostenuto nell'instaurazione del processo parassitario.

Non ci risultano invece notizie sulla composizione chimica degli sclerozi prodotti dal fungo.

Soltanto recentemente Resplandy e coll. (1959) hanno dimostrato la presenza di sostanze Dragendorff - positive in estratti di micelio prodotto da colture su substrati liquidi di composizione relativamente semplice.

Per questo motivo ed in considerazione anche del fatto che nel recente passato presso l'Istituto di Patologia vegetale sono state svolte ricerche su alcuni ceppi di questo fungo (Ghillini, 1952 e 1959), è stata avviata un'indagine sistematica sullo *Scl. rolfsii* allo scopo di accertare: 1) se sostanze di natura alcaloidea fossero presenti anche nella fase scleroziale; 2) quali fossero la natura chimica e le eventuali proprietà biologiche di tali sostanze alcaloidee; 3) se esistessero differenze sotto tale aspetto tra gli sclerozi ottenuti da colture « in vitro » e quelli che si formano sulle piante parassitate.

In questa prima nota vengono riferiti i risultati ottenuti con sclerozi prodotti da colture « in vitro ».

MATERIALE E TECNICA

La ricerca delle sostanze alcaloidee è stata eseguita su sclerozi prelevati da colture (*) di 50 giorni di età su agar malto in bottiglie di Roux, su stromi miceliali raccolti alla stessa età delle colonie e sull'essudato presente in quantità abbondante alla superficie delle colture all'atto della raccolta degli sclerozi e degli stromi.

Mentre l'essudato è stato analizzato direttamente, gli sclerozi e gli stromi miceliali sono stati sottoposti a tre tipi di estrazione.

1° procedimento: gli sclerozi e gli stromi, non essicati, erano triturati in mortaio in presenza di pochi ml di etanolo di 96° ed esauriti ripetutamente con lo stesso solvente (nella proporzione di 10 p. per 1 p. di materiale fresco) a temperatura ambiente e sotto agitazione meccanica. Eliminato l'etanolo (per distillazione

(*) E' stato impiegato il ceppo di *Scl. rolfsii* catalogato con il n. 3/3 nella Micoteca dell' Istituto di Patologia vegetale, le cui caratteristiche morfologiche sono state descritte da Ghillini (1959). Le colture sono state allevate al buio in camera termostatica a 32° C.

sotto pressione ridotta alla temperatura di 40° C) dalle soluzioni alcoliche riunite, il residuo era sgrassato mediante lavaggi con etere di petrolio e ridisciolto in acetato di etile. Dalla soluzione in acetato di etile si etraevano le sostanze alcaloidee in imbuto separatore, con piccole quantità di acido tartarico all'1 %.

I saggi biologici, chimici e cromatografici erano eseguiti sulla soluzione tartarica, il cui volume finale corrispondeva a 1 ml/g di sclerozi o stromi freschi.

2° procedimento: il materiale da estrarre, previa stabilizzazione in autoclave a 1/4 di atmosfera per 10 minuti, veniva essicato a 55° C, macinato e sgrassato con etere di petrolio a basso punto di ebollizione (30 - 45° C) in apparecchio di Soxhlet, a 40° C, per sette ore. La polvere, essicata, veniva estratta in apparecchio di Soxhlet con etere etilico per cinque ore. L'estratto etereo, evaporato a secchezza sotto pressione ridotta, era infine ridisciolto in acido tartarico all' 1 %.

La polvere, dopo l'estrazione eterea, era ancora trattata ripetutamente con metanolo. Eliminato quest'ultimo dalla soluzione ottenuta, il residuo era ridisciolto in acido tartarico all'1 %.

3° procedimento: gli sclerozi e gli stromi miceliali freschi, triturati in mortaio con sabbia di quarzo e umettati con etanolo di 20° contenente il 3 % di acido acetico, erano lasciati a temperatura ambiente per sei ore. L'omogenato, addizionato di 10 p. di etanolo di 20°, era conservato a 4° C per 24 ore. Il liquido estrattivo veniva separato per centrifugazione e il residuo solido trattato ancora per tre volte con 10 p. di etanolo di 20° (contenente il 0,3 % di acido acetico), agitato meccanicamente per un'ora e centrifugato. I supernatanti, riuniti al primo estratto alcolico acido, erano evaporati a secchezza sotto pressione ridotta a temperatura di 40° C ed il residuo secco disciolto in un piccolo volume di acqua distillata (1 ml/g di materiale fresco).

ANALISI CHIMICA E CROMATOGRAFICA

La presenza di sostanze alcaloidee negli estratti e nell'essudato di *Scl. rolfsii* è stata ricercata per mezzo dei reattivi generali, precipitanti e cromogenici, degli alcaloidi: reattivi di Mayer, di

Bouchardat, di Dragendorff; soluzione acquosa satura di acido picrico, soluzione idroalcolica di acido tannico, soluzione di $HgCl_2$ al 5 %; reattivi di Fröhde e di Wasicky (Lebeau e coll., 1955 - 56; Paech e coll., 1955).

Si sono usati anche i reattivi di Keller (Paech e coll., l. c.) e di Allport e Cocking alla p-dimetilaminobenzaldeide (p-DAB) (Pharmacopeia of the United States, 1960; British Pharmacopoeia, 1958), specifici per gli alcaloidi a nucleo indolico.

La presenza di sostanze alcaloidee nelle soluzioni analizzate è stata confermata mediante l'analisi cromatografica. I cromatogrammi, preparati su carta Whatman N. 1 depositando 20 - 40 μl di estratto da analizzare o di soluzione campione di alcaloidi puri, sono stati sviluppati con tecnica ascendente, usando una miscela di toluolo-etere di petrolio-metanolo (25 : 25 : 10) (Tuzson e coll., 1954) e con tecnica discendente in butanolo acetico (miscela di Partridge). Come rivelatori sono stati usati la luce di Wood, la ninidrina, i reattivi di Dragendorff, di Ehrlich, una soluzione di p-DAB al 0,2 % in HCl diluito, l'acido picrico, la p-nitroanilina, il $FeCl_3$ e il $AgNO_3$ alcalino (Block e coll., 1955; Smith, 1958).

RISULTATI

Nell'estratto di sclerozi preparato secondo il primo procedimento descritto nella parte tecnica (esaurimento con etanolo di 96°, a temperatura ambiente e sotto agitazione meccanica), i reattivi di Mayer, di Bouchardat, la soluzione di acido tannico e la soluzione di $HgCl_2$ determinavano la formazione di un abbondante precipitato. Con il reattivo di Keller la reazione era positiva, ma poco evidente.

I risultati dell'esame cromatografico sono riportati nella tavola I.

L'estratto risulta costituito da almeno sette componenti, quattro dei quali, e precisamente quelli a più bassa velocità di migrazione (Rf 0,03, 0,09, 0,21 e 0,33), reagiscono con la ninidrina, con il Dragendorff (alcaloidi) e con la p-nitroanilina (fenoli); con l' Ehrlich reagiscono formando il colore giallo delle amine aromatiche. I componenti ad Rf 0,38 e 0,69 danno con la p-DAB al 0,2 % e con il reattivo di Ehrlich reazioni positive con caratteristiche colorazioni, analogamente ad alcuni derivati indolici.

TAVOLA I

Rf	U. V. (luce di Wood)	Ninidrina	Ehrlich	Dragendorff	p-DAB	p-nitro-anilina	$FeCl_3$	$AgNO_3$	ac. picrico
0,03	G	+	G	+	B	++	—	++	—
0,09	—	+	G	+++	—	+++	—	++	+
0,21	G-V	++	G	+	—	+	+	+	—
0,33	—	—	G	+	-	+	+	+	—
0,38	b	+	V	—	R	—	—	-	—
0,52	A	+	—	—	—	—	—	—	--
0,69	A	—	B	—	B	—	--	—	—
0,90 (*)	VA	—	R-b	—	R-b	—	—	—	—

(*) La presenza di questo componente si è riscontrata solo negli estratti di *Scl. rolfsii* ottenuti con il 3° metodo d'estrazione.
G = giallo V = verde B = blu b = bianco R-b = rosso bruno A = azzurro

In base a questi ultimi risultati è stata considerata la possibilità che negli sclerozi di *Scl. rolfsii* potessero essere presenti principi attivi di struttura chimica simile a quella nota per altri tipi di sclerozi (*Claviceps purpurea* Tul., *Cl. microcephala* Vallr. Tul., *Cl. nigricans* Tul., *Cl. paspali* Stev. et Hall) (TREASE, 1946). Pertanto nei successivi esperimenti si sono applicate allo *Scl. rolfsii* due tecniche comunemente descritte per l'estrazione dei principi attivi della segale cornuta (British Pharmacopoeia, 1953 e Farmacopea Uff. Italiana, 1940) e l'analisi chimica e cromatografica sono state condotte secondo questa ipotesi.

Dei due metodi di estrazione successivamente applicati, il secondo (esaurimento in Soxhlet con etere etilico, previa stabilizzazione) non forniva all'analisi chimica e cromatografica alcun risultato positivo. Con il terzo procedimento invece (trattamento con etanolo di 20° contenente il 0,3 % di acido acetico) si otteneva una soluzione acquosa in cui le reazioni di Wasicky e di Keller erano positive. Il reattivo di Allport e Cocking determinava nell'estratto la comparsa di una colorazione rosso - bruna, e non blu o viola come con gli alcaloidi a nucleo indolico della *Claviceps* (*).

L'analisi cromatografica dello stesso estratto era eseguita, con tecnica discendente, in parallelo con quella di alcuni alcaloidi puri della segale cornuta (ergotamina tartrato, ergobasina tartrato e diidroergotossina metansulfonato) e della dietilamide dell'acido lisergico (LSD), tutti in quantità pari a 10 - 20 γ. I cromatogrammi, esaminati alla luce di Wood e rilevati con la soluzione di p-DAB al 0,2 %, dimostravano la presenza nell'estratto degli sclerozi di due componenti ad Rf 0,69 e 0,90, dotati di intensa fluorescenza verde - azzurra e che reagivano con la p-DAB producendo un colore blu pallido (Rf 0,69) e rosso - bruno (Rf 0,90). Il componente ad Rf 0,69 presenta caratteristiche cromatografiche che lo rendono identificabile con quello, ad Rf corrispondente, isolato con il primo metodo di estrazione.

Gli alcaloidi della segale cornuta e la LSD migravano con Rf corrispondenti a 0,92 (ergotossina), 0,88 (ergotamina), 0,75 e 0,63 (ergobasina), 0,67 (LSD), e reagivano con la p-DAB producendo tutti un colore blu intenso.

Con gli estratti ottenuti dal primo e dal terzo procedimento, sono state eseguite alcune prove biologiche preliminari per accertare la presenza di eventuali rilevanti effetti farmacologici.

Nel topo i due estratti, fino alla dose massima somministrata di 20 ml/Kg per via intraperitoneale ed endovenosa, non hanno in alcun caso determinato comparsa di apprezzabili manifestazioni tossiche.

(*) Come confermava lo spettro di assorbimento alla luce di Wood, il colore rosso-bruno era analogo a quello ottenuto con lo stesso reattivo in presenza di derivati dell'indolo più semplici degli alcaloidi della *Claviceps* (Graf e coll., 1954).

Nel coniglio in narcosi uretanica, l'iniezione endovena di 0,4 ml/Kg, non modificava apprezzabilmente i tracciati pressorio e respiratorio.

Negli estratti di stromi miceliali e nell'essudato, la ricerca delle sostanze alcaloidee e le prove di tossicità nei topi hanno sempre dato risultati negativi.

CONCLUSIONI

L'analisi degli sclerozi di *Scl. rolfsii* formatisi « in vitro » su agar malto, ha dimostrato la presenza in essi di sostanze basiche che forniscono alcune delle reazioni tipiche degli alcaloidi. Nessuna sostanza di tale tipo è stata invece ritrovata negli stromi miceliali e nell'essudato raccolto alla superficie delle colonie. Cromatograficamente tali sostanze possono essere divise in due gruppi: le une, a basso Rf (inferiore a 0,35) reagiscono con il Dragendorff e con i reattivi delle amine aromatiche e dei fenoli, le altre, a più elevata velocità di migrazione, sembrano contenere il nucleo indolico.

La quantità complessiva di alcaloidi presenti negli sclerozi ottenuti dalle colture « in vitro » è risultata tuttavia, in ogni caso, relativamente piccola e nessuno degli estratti analizzati ha dimostrato apprezzabile attività biologica negli animali superiori.

Istituto di Patologia vegetale e
Istituto di Farmacologia dell'Università di Padova.

SUMMARY

Chemical composition and pharmacological properties of sclerotia of Sclerotium rolfsii. - Note I.

by

PAOLO ALGHISI, TITO BERTI and GIULIANA FASSINA

There are reported the results of a research to ascertain the presence of alkaloidic substances in the sclerotia, in the mycelic stromata and in the exudation drops from cultures of *Sclerotium rolfsii* on malt agar.

By paper chromatography and chemical tests, the presence of basic substances which have given some of the typical reactions of the alkaloids, in the sclerotia were demonstrated. No such were found in the mycelic stromata and in the exudation drops picked up at the surface of the cultures.

The total quantity of alkaloid-like substances present in the sclerotia was, in every case, rather small, and none of the analysed extracts has shown any considerable biological activity in the higher animals.

BIBLIOGRAFIA

Block R. J., Durrum E. L. and Zweig G. (1955) — *A manual of paper chromatography and paper electrophoresis.* Ac. Press, New York.

British Pharmacopocia (1953).

British Pharmacopoeia (1958).

Edson H. A. and Shapovalov M. (1923) — *Journ. Agric. Res.*, **23**, 41-46.

Epps W. M., Patterson J. C. and Freeman I. E. (1951) — *Phytopath.*, **41**, 245-256.

Farmacopea Ufficiale del Regno d' Italia (1940) — VI ed.

Ghillini C. A. (1952) — *Ind. Sacc. Ital.*, **14**, 5-6.

Ghillini C. A. (1959) — *Not. Mal. Piante*, **49-50** (N. S. **28-29**), 229-242.

Graf E. und Neuhoff E. (1954) — *Arzneimittel - Forsch.*, **4**, 397.

Higgins B. B. (1927) — *Phytopath.*, **17**, 417-448.

Husain A. (1958) — *Phytopath.*, **48**, 338-340.

Kavanagh F. (1942) — *Bull. Torrey Bot. Club*, **69**, 669-691.

Johnson S. P. and Joham H. E. (1954) — *Plant Dis. Reptr.*, **38**, 602-606.

Lebeau P. et Janot M. M. (1955-56) — *Traité de Pharmacie chimique.* Masson et C.ie, Paris.

Milthorpe F. H. (1941) — *Proc. Linnean Soc. N. S.*, **66**, 65-75.

Paech K. und Tracey M. V. (1955) — *Moderne methoden der Pflanzenanalyse.* IV, Springer - Verlag, Berlin.

Paintin R. D. (1928) — *Mycologia*, **20**, 22-26.

Pharmacopeia of the United States (1960) — XVI.

Resplandy R. et Resplandy A. (1959) — *C. R. Ac. Sci.*, **248**, 1400-1402.

Robbins W. J. and Kavanagh F. (1938) — *Am. Journ. Bot.*, **25**, 229-236.

Rolfs P. H. (1893) — *Florida Univ. Agric. Expt. Sta., Bull.* **21**, 1-38.

Saccardo P. A. (1911) — *Ann. Mycol.*, **9**, 249-257.

Smith I. (1958) — *Chromatographic techniques.* William Heinemann - Medical Books Ltd., London.

Taubenhaus J. J. (1919) — *Journ. Agric. Res.*, **18**, 127-138.

Trease G. E. (1946) — *A text-book of pharmacognosy.* Baillière, Tindall and Cox., London.

Tuzson J. und Vastagh G. (1954) — *Pharm. Acta Helv.*, **29**, 118.

ENZIMI PECTICI PRODOTTI DA *SCLEROTINIA MINOR* SU SUBSTRATI ORGANICI (*)

PAOLO ALGHISI

In due precedenti note (Alghisi, 1961) sono stati precisati i motivi che hanno suggerito lo studio di alcuni aspetti della fisiologia e del biochimismo di un ceppo di *Sclerotinia minor* isolato da piante di radicchio affette da « marciume del colletto ».

Nella parte sperimentale del presente lavoro sono riportati i risultati di ulteriori prove effettuate, in continuazione alle precedenti, per determinare la quantità di enzimi pectici esocellulari che il citato fungo è in grado di produrre allorchè viene allevato su substrati organici.

MATERIALE E METODI

Le colonie di *Scl. minor* sono state allevate in matracci conici da 250 ml contenenti i seguenti substrati: brodo di malto, brodo di fagiolo glucosato, brodo di radicchio (**), crusca grossa di fru-

(*) Lavoro eseguito con un contributo del Consiglio Nazionale delle Ricerche.

(**) I brodi liquidi sono stati preparati nel seguente modo:

Brodo di malto: 100 gr di orzo germinato, seccato e macinato vengono tenuti per un'ora in 1000 ml di acqua distillata a 54 - 56° C; trascorso questo periodo di tempo si fa bollire per 5 minuti, quindi si filtra per garza e poi per carta e si riporta il filtrato a 1000 ml con acqua distillata.

Brodo di fagiolo glucosato: 200 gr di fagioli bianchi secchi si cuociono in 1000 ml di acqua distillata fino alla loro precipitazione sul fondo del recipiente di cottura; il brodo, filtrato per carta e riportato a 1000 ml con acqua distillata, viene addizionato con l' 1 % di glucosio.

Brodo di radicchio: 300 gr di foglie di radicchio tagliate a pezzi (per l'occasione è stato usato radicchio variegato raccolto in un orto di Chioggia) vengono fatte bollire fino a cottura in 1000 ml di acqua distillata; il liquido viene filtrato e riportato a volume con acqua distillata.

mento umidificata con l'aggiunta del 40 % in peso di acqua distillata.

I brodi liquidi, il cui pH non è stato corretto, sono stati distribuiti nei matracci in ragione di 1/5 del loro volume, mentre la crusca di frumento è stata posta in quantità pari a 80 gr per matraccio.

Le operazioni di chiusura, sterilizzazione e inoculo (*), quest'ultima eseguita scalarmente per ognuno dei quattro gruppi di matracci, sono state effettuate con le modalità riferite in una delle note ricordate.

Dopo 7, 14, 21 e 28 giorni di permanenza in termostato a 21° C, da ogni gruppo di colture su substrati liquidi, sono stati prelevati, assolutamente a caso, 10 matracci e la massa miceliale presente in ciascuno di essi, separata dal mezzo colturale, è stata lavata e seccata in stufa a 103° C, adottando la procedura già descritta (Alghisi, l. c.). Sui filtrati colturali così ottenuti sono state immediatamente effettuate le analisi programmate.

Dalle colture su crusca, il cui sviluppo miceliale non fu possibile valutare mediante pesata, è stato ottenuto il lisato nel seguente modo: allo scadere dei periodi precedentemente elencati, ad ognuno dei 10 matracci che costituivano il campione da esaminare, sono stati aggiunti 200 ml di acqua distillata e due gocce di toluolo per bloccare l'eventuale sviluppo di batteri inquinanti. Dopo energica agitazione, per dispendere uniformemente la crusca nell'acqua, e successiva permanenza per 12 ore in termostato a 21° C, il contenuto di tutti i matracci è stato filtrato attraverso garza e la parte liquida raccolta è stata contrifugata a 3000 x g per 15 minuti. Il sopranatante, filtrato su carta, è stato analizzato.

E' stata dosata la PME (pectin-metilesterasi), a pH 3,5, 4,5, 5,5, e la PG (poligalatturonasi), a pH 3,5 e 4,0.

La PME è stata determinata con il metodo di Winstead e coll. parzialmente modificato (Alghisi, l. c.) basato sul dosaggio dei gruppi metossilici (**) idrolizzati dalla pectina, costituente il sub-

(*) E' stato impiegato il ceppo di *Sclerotinia minor* catalogato con il n. 6/1 nella Micoteca dell' Istituto di Patologia vegetale dell' Università di Padova.

(**) Nel corso della presente ricerca per titolare a pH 7 ciascuna miscela di reazione, dopo incubazione in bagno termostatico per 4 ore, è stata impiegata NaOH 0,05 N.

strato di reazione, ad opera dell'enzima presente in 1 ml di filtrato o lisato colturale. In occasione di ogni analisi, allo scopo di valutare la massima attività enzimatica, sono stati effettuati tre saggi per ciascun pH sperimentale impiegando miscele di reazione nelle quali il filtrato colturale era contenuto in ragione del 5, 10 e 15 % del loro volume complessivo.

Per la PG è stato usato il metodo di Mac Donnel, modificato da Winstead e coll. (1954), mediante il quale viene valutato, per via iodometrica, l'incremento del potere riducente della miscela di reazione contenente pectina dovuto all'idrolisi glicosidica cui soggiace la stessa molecola pectica ad opera dell'enzima. L'attività è stata espressa sommando i milligrammi di I_2 ridotto, per azione dell'enzima presente in 1 ml di filtrato colturale, in ciascuna delle titolazioni effettuate ai miunti 15, 30, 45, 60, 75, 90, 120, 150 e 180 dall'inizio del saggio.

RISULTATI OTTENUTI

Il pH misurato sui tre substrati liquidi all'atto dell'inoculo e quello rilevato al momento delle analisi sui filtrati colturali e sui lisati delle colture su crusca, è riportato alla tabella n. 1.

Tabella n. 1 : pH dei filtrati colturali e del lisato di crusca.

Età delle colture	SUBSTRATO DI ACCRESCIMENTO			
	Malto	Fagiolo gluc.	Radicchio	Crusca frum.
all'inoculo	5,90	6,18	5,32	—
7 giorni	3,25	2,57	3,81	5,09
14 „	2,85	3,78	5,09	6,05
21 „	2.85	4,27	5,15	6.15
28 „	2,85	4,30	5,20	6,25

I dati della tabella n. 2 e le curve della figura n. 1 con essi costruite, danno l'accrescimento delle colonie di *Scl. minor* sui quattro substrati impiegati nella prova.

TABELLA n. 2: peso secco medio di una colonia alle diverse età e sui vari substrati liquidi (ogni peso è la media di 10 pesate).

Età delle colonie	SUBSTRATO DI ACCRESCIMENTO		
	Malto	Fagiolo gluc.	Radicchio
7 giorni	gr. 0,3333	gr. 0,2386	gr. 0,1550
14 "	" 0,7392	" 0,4352	" 0,1637
21 "	" 0,7513	" 0,4395	" 0,1562
28 "	" 0,8106	" 0,4049	" 0,1524

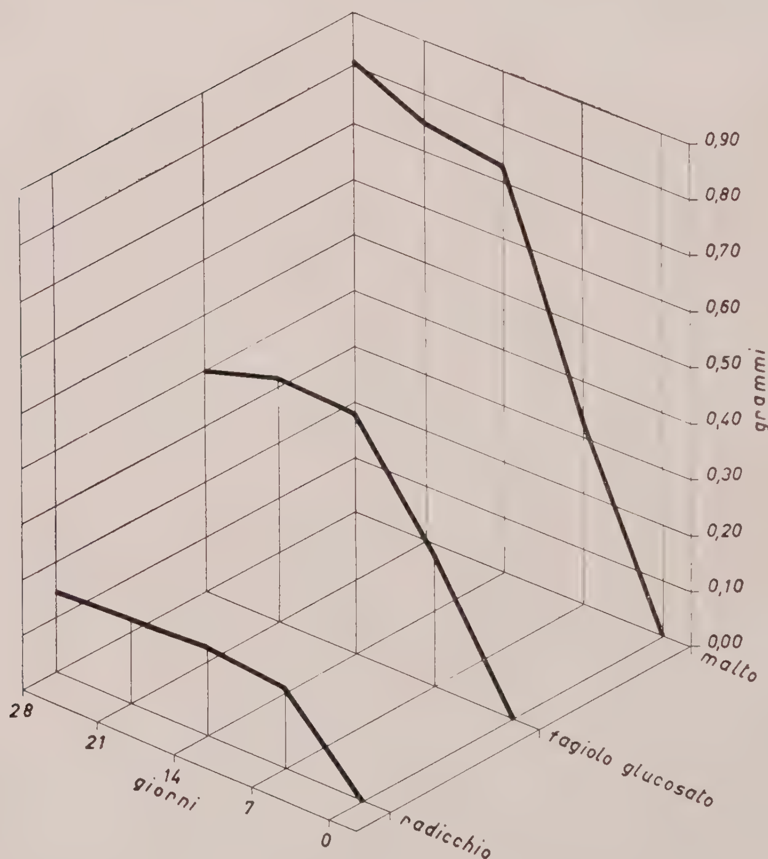


Fig. 1: accrescimento di *Scl. minor* sui substrati liquidi.

Abbastanza sensibili sono state le differenze morfologiche presentate dalle colonie allevate sui quattro substrati.

Sul brodo di malto il fungo si è sviluppato, durante i primi sette giorni, con micelio bianco, cotonoso, molto aereo, che ha invaso tutta la superficie del liquido colturale, fino alla parete delle beute; gli sclerozi, di discrete dimensioni, erano presenti in numero abbondante. A partire dal settimo giorno di età delle colonie le ife miceliali hanno progressivamente perso il loro portamento aereo, assumendo colore bianco - grigiastro, il feltro miceliale si è fatto più spesso sviluppandosi anche in sommersione, mentre gli sclerozi sono ulteriormente aumentati di numero.

Sul fagiolo glucosato le colonie si sono sviluppate rapidamente con micelio non aereo, che formava un feltro discretamente spesso e compatto solcato da increspature che dal centro della colonia si dirigevano radialmente verso la periferia. Sclerozi numerosi, piccoli, isolati e provvisti, fino al settimo giorno di età delle colonie, di piccole goccie di liquido. I filtrati ottenuti dalle colture di 7 e 14 giorni di età erano fortemente tamponati rispettivamente a pH 2,57 e 3,78.

Sul brodo di radicchio il micelio fungino, sempre aderente al liquido di coltura, si è sviluppato formando un velo sottile di aspetto quasi polverulento. Successivamente alla data di effettuazione della seconda analisi l'esile feltro miceliale costituente le singole colonie si è suddiviso in tante porzioni galleggianti sul brodo di coltura, nettamente separate le une dalle altre, delle dimensioni ognuna di circa mm 4 - 5 × 2 - 3. Abbondanti gli sclerozi, assai piccoli, regolari di forma e provvisti di minutissime goccioline liquide.

Sulle crusca di frumento la *Sclerotinia* ha prodotto ife sericee, inizialmente aeree e molto isolate, che hanno progressivamente invaso tutta la massa del substrato nel quale si sono presto differenziati numerosi sclerozi spesso aggregati tra loro a formare degli ammassi di discrete dimensioni. Con il passare dei giorni dalla data d'inoculo la crusca contenuta in ciascuna beuta ha aumentato la sua compattezza cambiando contemporaneamente d'aspetto; essa infatti sembrava subire un processo di digestione che ha fatto perdere ai singoli frammenti che la componevano la loro originale forma e consistenza.

Le attività enzimatiche dosate sui filtrati colturali e sul lisato di crusca sono riportate alle tabelle n. 3 e 4 e dalle figure n. 2 - 9.

TABELLA n. 3: attività della PME espressa in mgr di gruppi OCH_3 liberati da 1 ml di filtrato o lisato colturale ai tre pH sperimentali.

Età delle colonie	Malto			Fagiolo gluc.			Radicchio			Crusca frum.		
	pH 3,5	pH 4,5	pH 5,5	pH 3,5	pH 4,5	pH 5,5	pH 3,5	pH 4,5	pH 5,5	pH 3,5	pH 4,5	pH 5,5
7 giorni	1,0883	1,6815	2,4054	0,6474	0,8857	1,0287	2,4089	2,7484	3,0091	7,3082	8,3855	7,1997
14 "	1,2312	1,8253	2,8814	0,9197	1,3356	1,4977	2,8474	3,3749	3,5079	2,5342	1.7662	1,5035
21 "	1,3334	1,9176	2,9713	0,8525	1,1999	1,3828	2,3771	3,0122	3,2034	2,2242	1,9607	1,2942
28 "	0,9447	1,6920	2,2902	0,8 67	0,8508	1,0877	2,1887	2.6159	3,1965	1,2865	1,5190	1,0307

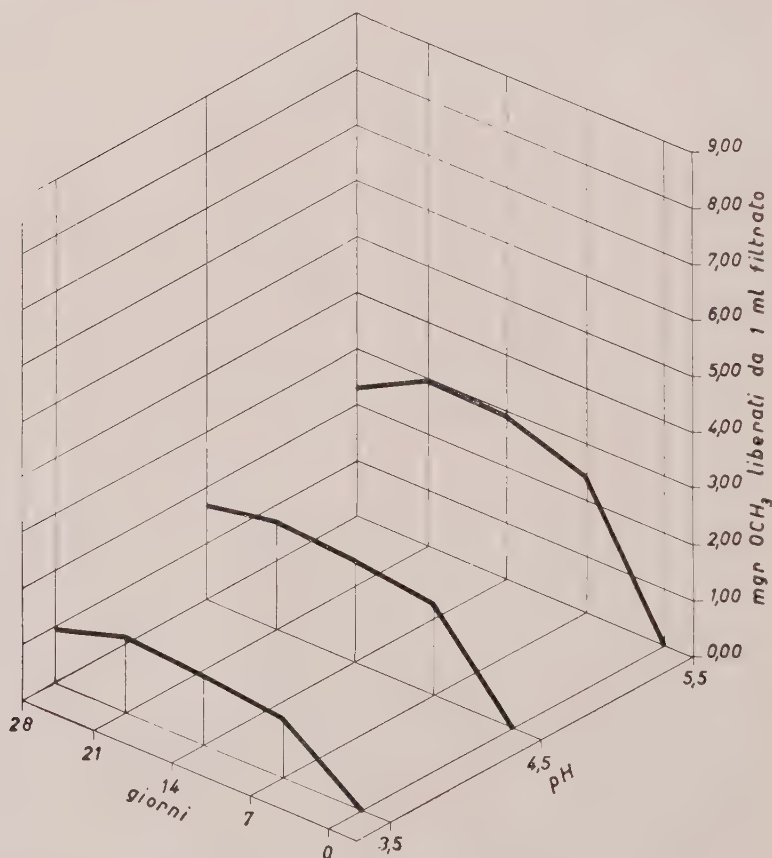


Figura 2: attività massima della PME sintetizzata su brodo di malto da colonie di *Scl. minor* a quattro età di sviluppo.

TABELLA n. 4: attività della PG espressa in mgr di I_2 ridotto, calcolata come descritto nel testo.

Età delle colonie	Malto		Fagiolo gluc.		Radicchio		Crusca frum.	
	pH 3,5	pH 4,0	pH 3,5	pH 4,0	pH 3,5	pH 4,0	pH 3,5	pH 4,0
7 giorni	3.8164	8,4584	2,0698	4,3348	70,7732	72,5888	154,5632	171,4352
14 „	7,2292	9,2432	6,6658	10,0024	62,6114	66,8828	68,9296	75,8622
21 „	11,1986	12,3566	2,8390	6,8004	40,7394	42,9562	67,0325	73,8150
28 „	4,4898	8,7812	3,4638	6,2088	21,5900	23,5046	51,1686	51,6972

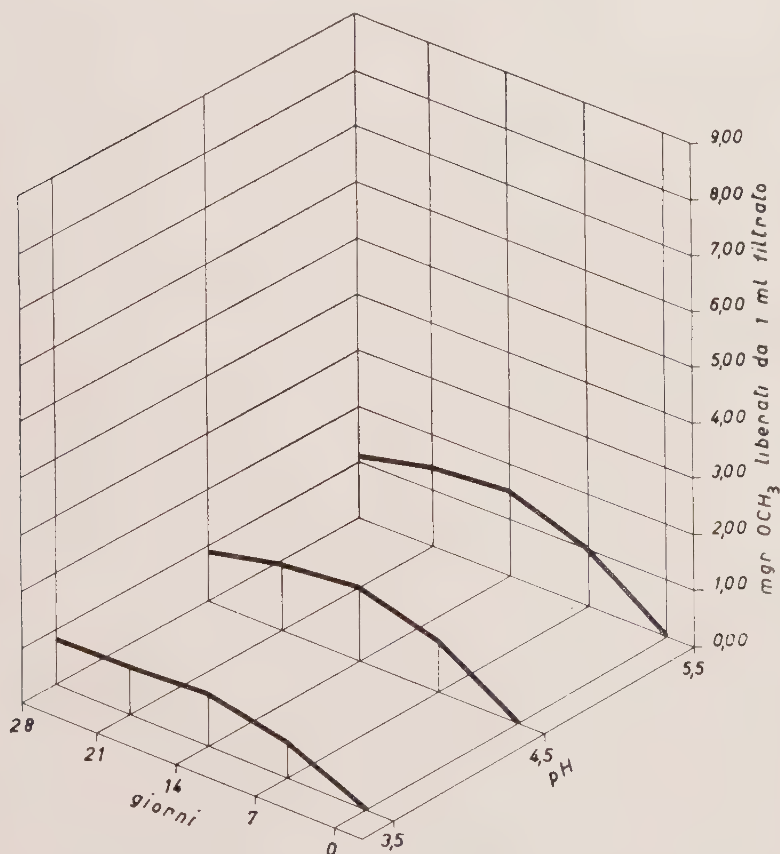


Figura 3: attività massima della PME sintetizzata su brodo di fagiolo glucosato da colonie di *Scl. minor* a quattro età di sviluppo.

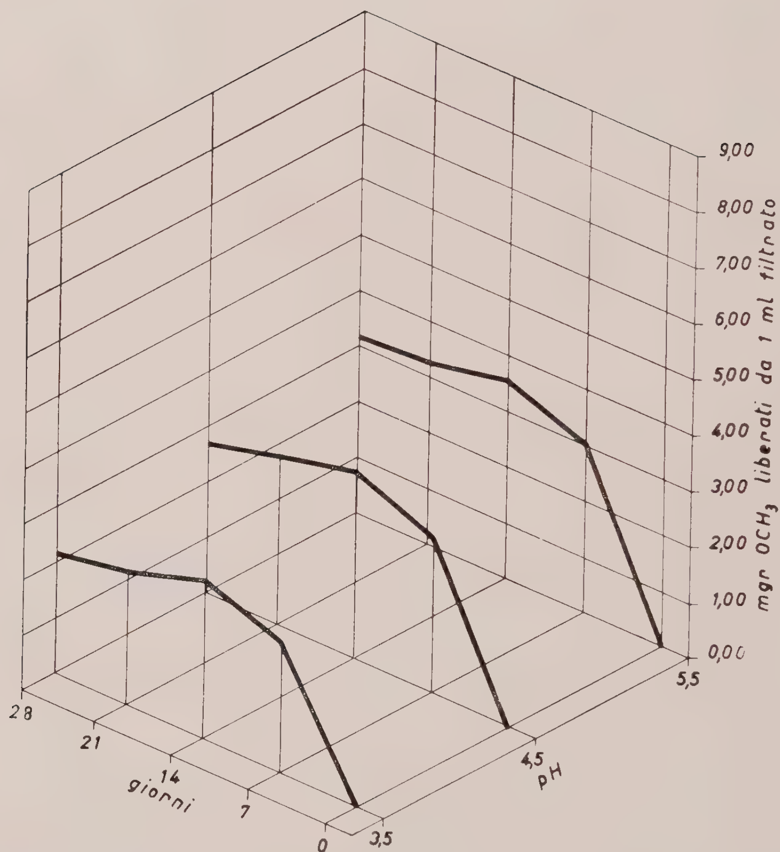


Figura n. 4: attività massima della PME sintetizzata su brodo di radicchio da colonie di *Scl. minor* a quattro età di sviluppo.

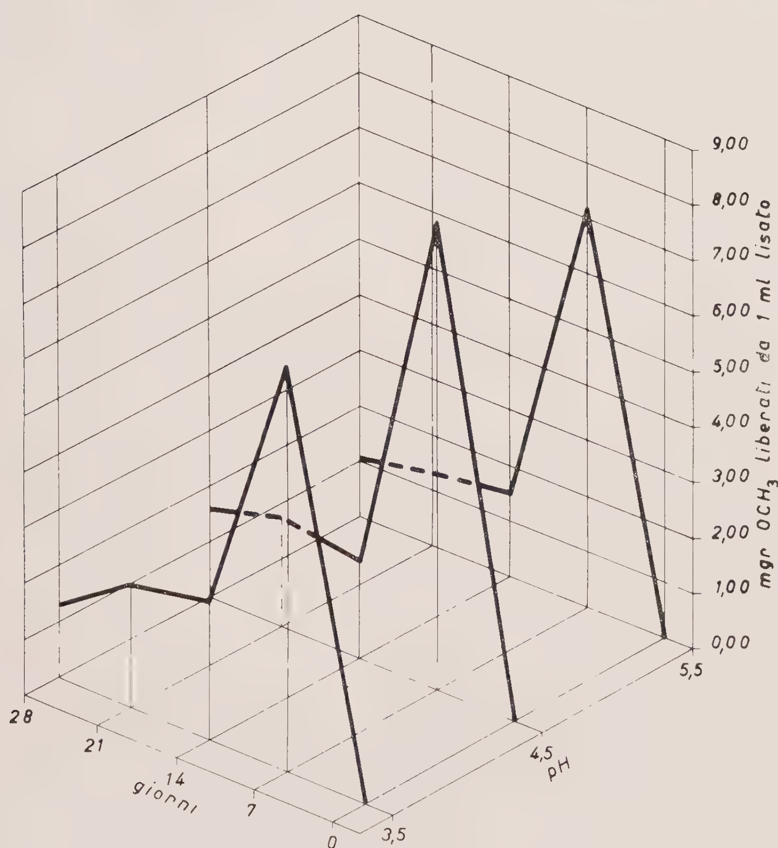


Figura n. 5: attività massima della PME sintetizzata su crusca di frumento da colonie di *Scl. minor* a quattro età di sviluppo.

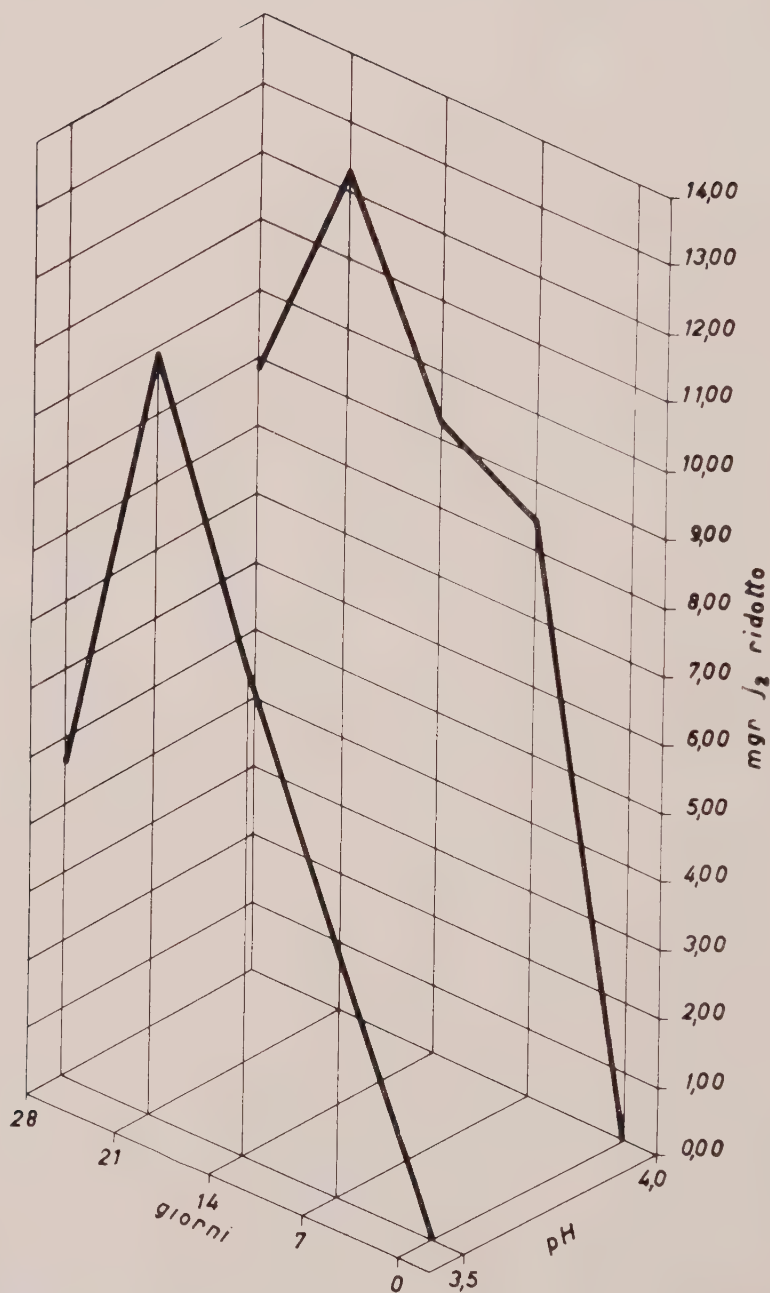


Figura n. 6: attività della PG sintetizzata su brodo di malto da colonie di *Scl. minor* a quattro età di sviluppo.

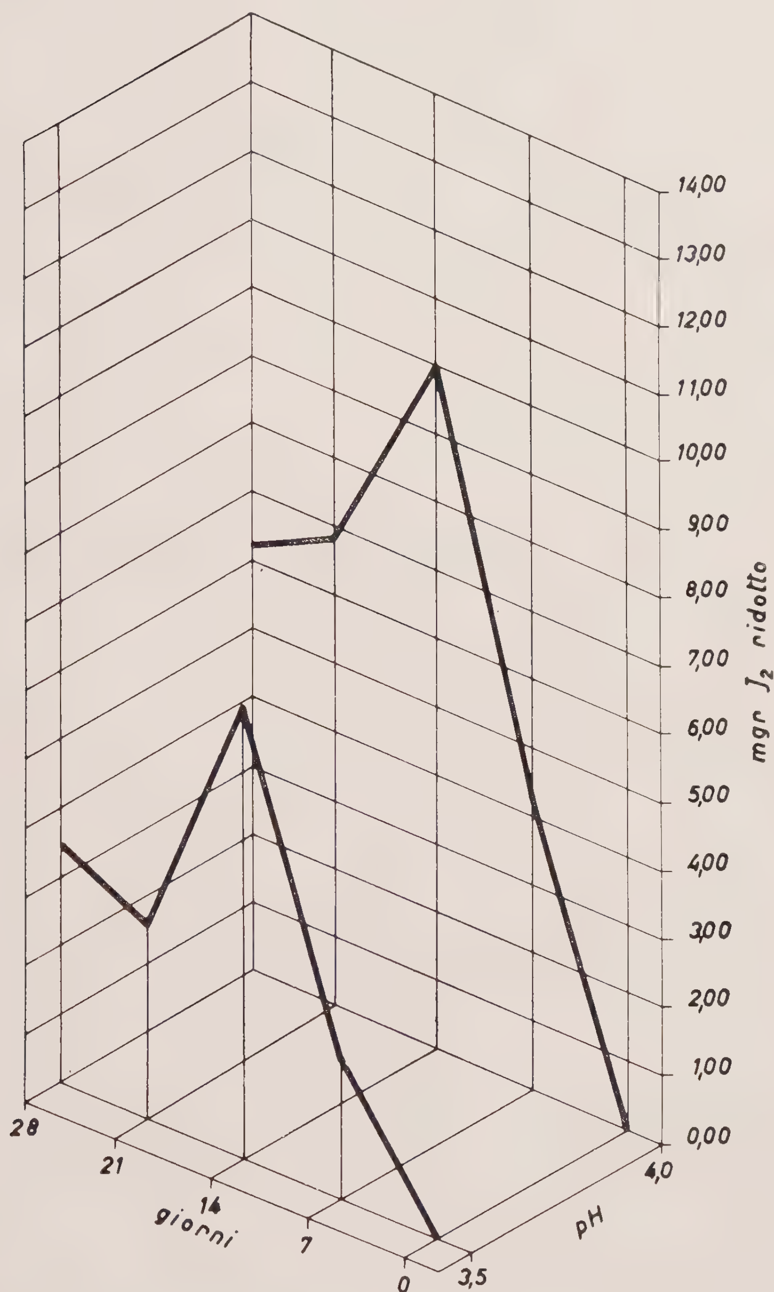


Figura n. 7: attività della PG sintetizzata su brodo di fagiolo glucosato da colonie di *Scl. minor* a quattro età di sviluppo.

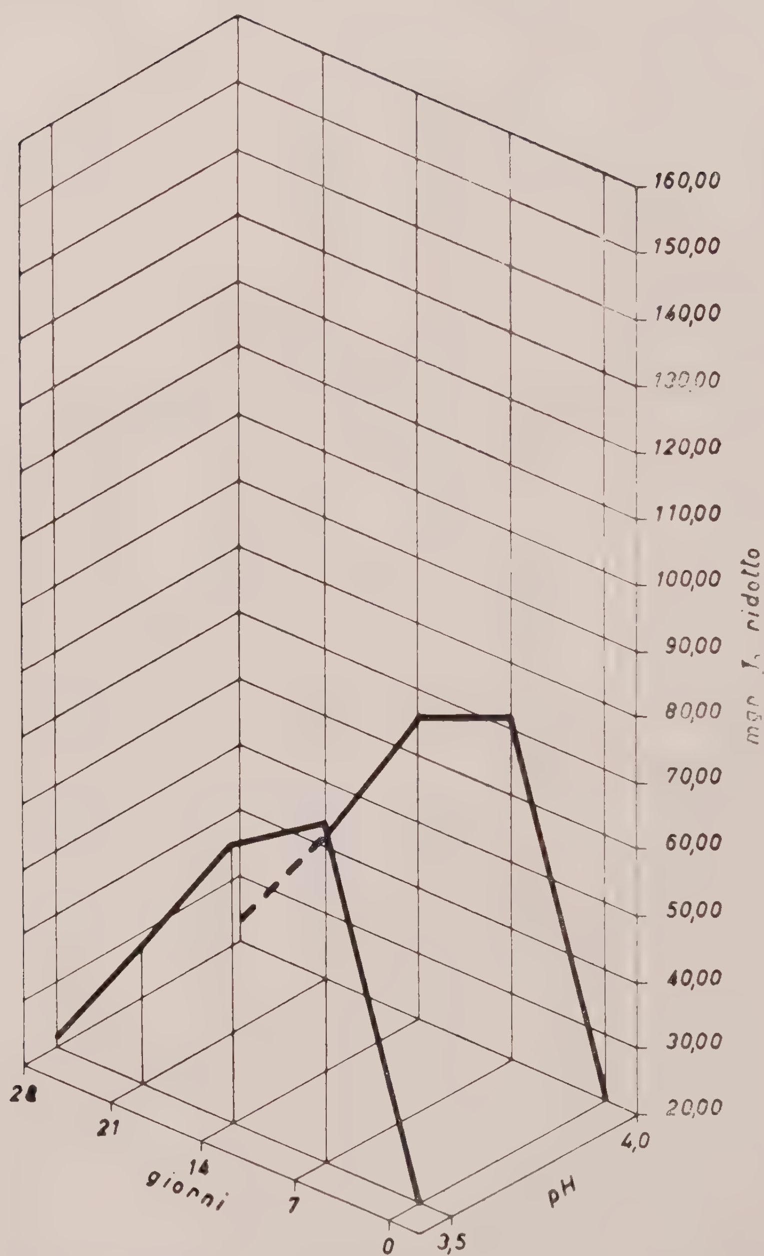


Figura n. 8: attività della PG sintetizzata su brodo di radicchio da colonie di *Scl. minor* a quattro età di sviluppo.

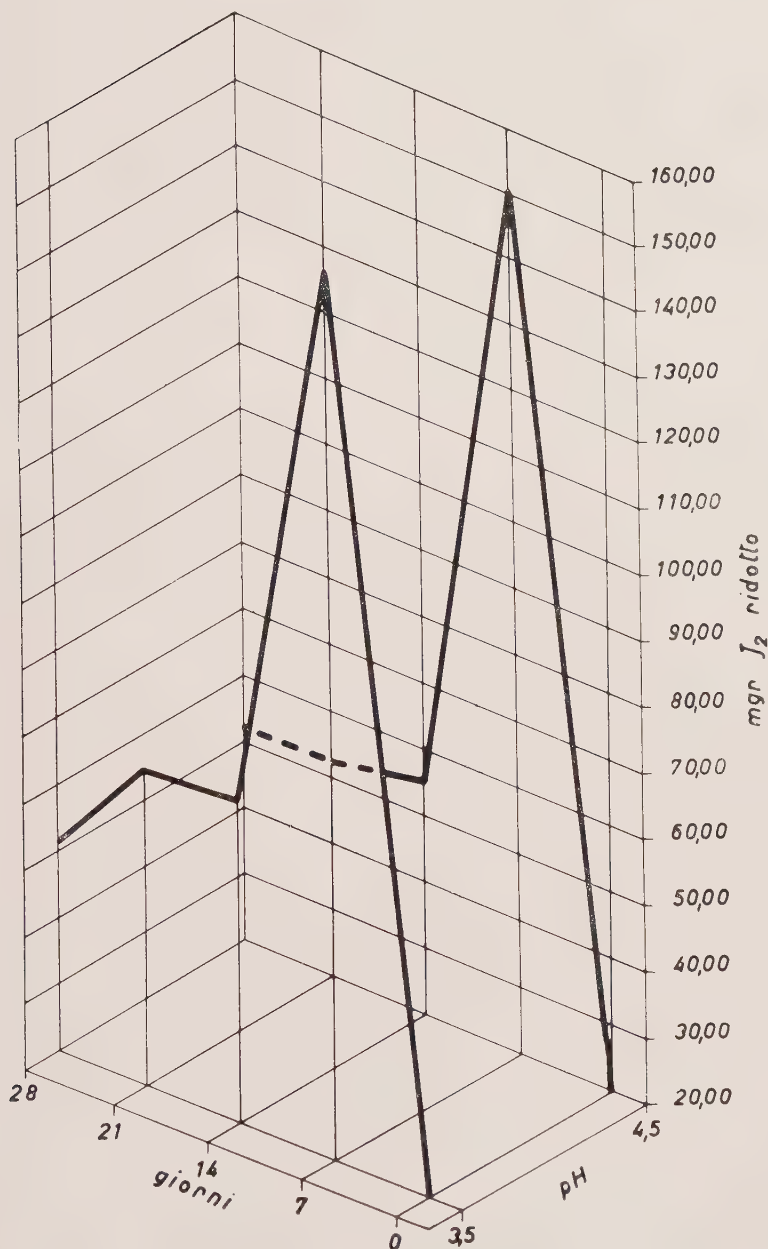


Figura n. 9: attività della PG sintetizzata su crusca di frumento da colonie di *Scl. minor* a quattro età di sviluppo.

DISCUSSIONE

I dati riguardanti l'accrescimento di *Scl. minor* sui substrati liquidi indicano che il fungo ha trovato le condizioni più favorevoli al suo sviluppo nel brodo di malto, sul quale l'accrescimento si è realizzato, seppure con varia intensità, per tutto il periodo sperimentale. Sul brodo di fagiolo glucosato l'incremento ponderale del micelio fungino è durato fino al 14° giorno di età delle colture, mentre su quello di radicchio le colonie hanno raggiunto il massimo sviluppo a 7 giorni di età.

Le quantità di PME e di PG prodotte dalla *Scl. minor* sui quattro substrati sono risultate superiori a quelle sintetizzate su un brodo minerale durante una precedente ricerca (Alghisi, l. c.).

Le curve di produzione della PME sui tre brodi liquidi, presentano un andamento che, nel complesso, può ritenersi molto simile. In detti substrati il pH 5,5, tra quelli usati, è risultato ottimale per il dosaggio dell'enzima, che nel periodo compreso tra la data d'inoculo del fungo nelle beute e quella di effettuazione della prima analisi è stato sintetizzato molto attivamente.

La produzione di PME ad opera delle colonie di *Scl. minor* allevate su crusca di frumento risulta dalla figura n. 5. Essa mostra che in questo substrato la sintesi enzimatica è stata complessivamente più abbondante di quella rilevata sui brodi liquidi ed inoltre mette in evidenza un andamento della produzione che differisce da quello osservato sui brodi di malto, di fagiolo glucosato e di radicchio.

Infatti ai tre pH di analisi la più alta attività enzimatica è stata dosata a 7 giorni di età delle colture; successivamente la sintesi dell'enzima è bruscamente diminuita, tanto che a partire dalla seconda analisi sono state dosate attività molto vicine a quelle rilevate nei brodi liquidi. Il pH ottimale di analisi per la deesterificazione della pectina ad opera dell'enzima contenuto nel lisato di crusca è stato 4,5 nel primo e nell'ultimo dosaggio e 3,5 nei due dosaggi intermedi.

Il rapporto filtrato colturale - pectina, nelle miscele di reazione, non ha praticamente influenzato l'attività enzimatica dei filtrati ottenuti dalle colture sui brodi liquidi, mentre ha esercitato un'influenza, talora sensibile, su quella dell'enzima sintetizzato dalle colonie allevate su crusca di frumento; detto enzima infatti ha esplicato la più alta attività nei substrati di reazione

contenenti la percentuale minore di lisato e ciò è avvenuto in maniera più evidente alle analisi effettuate a 7 giorni di età delle colture, come risulta dall'esame dei dati elencati alla tabella n. 5.

TABELLA n. 5: influenza del rapporto lisato/pectina sull'attività della PME prodotta su crusca di frumento.

pH di analisi	% di lisato nella miscela di reazione	mgr OCH_3 liberati da 1 ml di lisato			
		7 gg.	14 gg.	21 gg.	28 gg.
	5	7,3082	2,5342	2,2242	1,2865
3,5	10	5,4637	2,2231	1,8884	1,2581
	15	4,1256	1,9297	1,6533	1,2090
	5	8,3855	1,7662	1,9607	1.5190
4,5	10	6,0118	1,6662	1,7321	1,1547
	15	4,3120	1,5425	1,6172	1,0021
	5	7,1997	1,5035	1,2942	1,0307
5.5	10	4,4446	1,3369	1,2516	0,8370
	15	3,6895	1,1289	1,1806	0,7515

Le curve di produzione della PG, riportate alle figure n. 6 - 9, indicano che il pH 4 è stato ottimale per il dosaggio di questo enzima. Sul brodo di radicchio e sulla crusca di frumento la sintesi è stata massima al 7° giorno di età delle colonie, sul brodo di fagiolo glucosato al 14° e sul brodo di malto al 21°.

Le curve di attività della PG prodotta dalla *Scl. minor* su crusca di frumento sono molto simili, come andamento, a quelle che, per lo stesso substrato, sono state costruite con i dati ottenuti dai dosaggi della PME. Sui rimanenti substrati le curve mostrano andamenti meno regolari e talora interrotti da flessi.

A questo proposito è però da tenere presente quanto già ricordato nella citata precedente nota e cioè che l'attività dosata della PG può essere più bassa di quella che realmente si è esplicata nella miscela di reazione perchè i gruppi aldeidici formati per

azione dell'enzima sulla molecola pectica possono venire rapidamente trasformati in gruppi carbossilici che, mancando di potere riducente, sfuggono al dosaggio. Com'è stato di recente dimostrato (Heitefuss e coll., 1960) questa trasformazione può essere catalizzata da ossidasi che, prodotte dal fungo in studio, vengono a trovarsi nel filtrato colturale assieme alla PG da dosare.

Per correlare la produzione enzimatica all'accrescimento del fungo si è creduto opportuno dividere la più alta quantità di PME e di PG determinata in ogni substrato liquido (*) in occasione di ciascuna serie di analisi, per il relativo peso secco medio di una colonia, assunto come indice di accrescimento. La tabella n. 6 riporta i dati ottenuti, dall'esame dei quali appare, per prima cosa, la veramente considerevole capacità della *Scl. minor* di produrre enzimi pectici. Inoltre risulta che detta capacità di sintesi è stata esplicata in più alta misura dalle colonie allevate su brodo di radicchio che, viceversa, si è mostrato il meno favorevole al loro sviluppo. Questo fatto indica che la sintesi di PME e di PG ad opera della *Scl. minor* non è strettamente correlata all'accrescimento del fungo.

Tabella n. 6: attività della PME e della PG riferita a 1 gr di micelio secco.

Età delle colonie	Malto		Fagiolo gluc.		Radicchio	
	PME mgr OCH_3	PG mgr I_2 rid.	PME mgr OCH_3	PG mgr I_2 rid.	PME mgr OCH_3	PG mgr I_2 rid.
7 giorni	7,2168	25,3777	4,3114	18,1676	19,4135	468,3148
14 "	3,8980	12,5043	3,4414	22,9834	21,4288	408,5693
21 "	3,9549	16,4469	3,1463	15,4730	20,5083	275,0076
28 "	2,8253	10,8330	2,6863	15,3341	20,9744	154,2296

(*) Per il motivo precedentemente esposto non è stato possibile calcolare questo rapporto per le colonie allevate sulla crusca di frumento.

E' sembrato infine interessante stabilire secondo quale rapporto i due enzimi pectici sono stati sintetizzati sui quattro substrati dalla *Scl. minor* e ciò anche per disporre di un indice che permetta un facile confronto dei dati ottenuti nel corso della presente ricerca con quelli di ulteriori indagini già programmate.

Alla tabella n. 7 sono riportati i quozienti tra la più alta quantità di PME e di PG dosata ad ogni analisi; il calcolo di detti quozienti è stato fatto tenendo presente che ad ogni dosaggio della PG era determinato l'enzima contenuto complessivamente in 9 ml di filtrato o lisato colturale.

TABELLA n. 7: rapporto tra quantità massime di PME e di PG presenti in 1 ml di filtrato o lisato colturale.

Età delle colonie	SUBSTRATO DI ACCRESCIMENTO			
	Malto	Fagiolo gluc.	Radicchio	Crusca frum.
7 giorni	2,5595	2,1360	0,3731	0,4402
14 „	2,8056	1,3476	0,4720	0,3006
21 „	2,1642	1,8301	0,6712	0,2711
28 „	2,3472	1,5766	1,2240	0,2644

Dall'esame dei dati tabulati risulta che la *Scl. minor* sintetizza i due enzimi in proporzioni variabili a seconda del substrato di accrescimento e dell'età delle colonie.

CONCLUSIONI

L'abbondante quantità di enzimi pectici prodotti dalla *Scl. minor* spiega la grande rapidità con la quale detto fungo demolisce, in condizioni ambientali ottimali, i tessuti delle piante di radicchio che parassitizza (ALGHISI e coll., 1960).

In tutti i substrati usati, la sintesi enzimatica è stata più abbondante durante il primo periodo di sviluppo delle colonie e ciò sembra confermare l'opinione secondo la quale le cellule giovani, in più attivo accrescimento, sono quelle che producono le maggiori quantità di enzimi anche se, talora, la produzione può continuare dopo che la crescita della colonia si è arrestata a causa dell'elevato contenuto enzimatico nel substrato di allevamento (Wood R. K. S., 1960).

I dati ottenuti nel corso della presente ricerca indicano che la produzione di PME e di PG non è proporzionale all'accrescimento ponderale della *Sclerotinia* e questo fatto spiega il disfacimento totale che le piante di radicchio subiscono in campo pure essendo i loro tessuti scarsamente interessati dallo sviluppo del patogeno.

L'abbondante produzione di PME, rilevata particolarmente sul brodo di radicchio e sulla crusca di frumento, assume notevole interesse se si tiene presente che molte specie di microrganismi che sono causa di marciumi molli producono in coltura piccole quantità di detto enzima (Gäumann e coll., 1957; Echandi e coll., 1957; Ceponis e coll., 1959; Wood, 1955).

Il diverso pH al quale è stata ottenuta la maggiore deesterificazione della pectina induce a credere che la *Scl. minor* sia in grado di sintetizzare differenti tipi di PME. L'enzima presente nei brodi liquidi, che ha dato la più alta attività a pH 5,5, potrebbe essere ritenuto simile a quello che la *Sclerotinia* ha prodotto in brodi minerali (Alghisi, l. c.), mentre la PME sintetizzata dalle colture su crusca sembra assomigliare, come comportamento, a quella prodotta da altri funghi e segnalata da diversi Autori tra i quali recentemente da Graniti (1959). Inoltre, a differenza di quanto rilevato con i brodi liquidi, la PME prodotta dalle colture su crusca di frumento ha sempre agito in misura superiore nelle miscele di reazione contenenti la percentuale minore di lisato.

La PG ha esplicato la massima attività a pH 4, lo stesso che Echandi e coll. (l. c.) indicano come ottimale per quella prodotta in coltura dalla *Scl. sclerotiorum.*

Il fatto che in una precedente indagine la PG prodotta dalla *Scl. minor* allevata su brodi minerali abbia manifestato la più alta azione a pH 3,5 fa pensare che il fungo sia dotato della capacità di produrre tipi differenti anche di questo enzima, e che questa capacità venga notevolmente influenzata dal substrato sul quale esso

viene allevato. Del resto, secondo recenti acquisizioni, con il termine poligalatturonasi è indicato un complesso di enzimi che si differenziano a seconda dei legami che attaccano nella molecola pectica (DEMAIN e coll., 1957; DEUEL e coll., 1958).

Difficile riesce individuare esattamente i fattori che hanno determinato produzioni differenti di PME e di PG nei quattro substrati di allevamento della *Scl. minor*. E' però da rilevare che la loro diversa complessità costitutiva può essere stata la causa di una differente induzione enzimatica ed inoltre che la produzione di enzimi è notevolmente influenzata dal rapporto C/N nel mezzo di coltura (WOOD R. K. S., 1960), rapporto che indubbiamente era diverso nei substrati impiegati.

Istituto di Patologia vegetale dell' Università di Padova.

RIASSUNTO

E' stata studiata « in vitro » la produzione di PME e di PG ad opera di un ceppo di *Sclerotinia minor* isolato da piante di radicchio affette da « marciume del colletto ».

Il fungo, allevato su substrati organici, ha prodotto elevate quantità dei due enzimi. Il pH ottimale di azione è stato 5,5 per la PME prodotta nel brodo di malto, di fagiolo glucosato e di radicchio, 4,5 e 3,5 per quella prodotta su crusca grossa di frumento. La PG ha esplicato la maggiore attività a pH 4.

Sulla base dei risultati ottenuti, confrontati con quelli riferiti in un precedente lavoro e con quelli rilevati da altri Autori, sono state discusse alcune caratteristiche relative alla produzione ed al comportamento dei due enzimi.

SUMMARY

Pectic enzymes produced by the Sclerotinia minor on organic substrate

by

PAOLO ALGHISI

There has been studied in the laboratory the production pectin-methylesterase (PME) and polygalatturonase (PG) using a strain of *Sclerotinia minor* taken from chicory plants afflicted by « collar rot ».

The fungus, grown on organic substrate, has produced a high quantity of both enzymes.

The optimum pH of action has been 5,5 for the PME produced in the malt solution, in bean-soup with glucose added and in chicory-soup; 4,5 and 3,5 for that produced on the wheat bran. The PG has developed the highest activity at pH 4.

On the base of the results obtained, compared with those of precedent researches and with those referred by other Authors, some caracteristics relative to the production and the behaviour of the two enzymes have been discussed.

LETTERATURA CITATA

Alghisi P. (1961) — *Riv. Pat. Veg.*, **1**, 65.

Alghisi P. (1961) — *Riv. Pat. Veg.*, **1**, 83.

Alghisi P. e Da Re M. L. (1960) — *Not. Mal. Piante*, **53**, 323.

Ceponis M. J. and Friedman B. A. (1959) — *Phytopath.*, **49**, 141.

Demain A. L. and Phaff H. Y. (1957) — *Wallerstein Lab. Commun.*, **20**, 119.

Deuel H. and Stutz E. (1958) — *Advances in Enzymol.*, **20**, 341.

Echandi E. and Walker J. C. (1957) — *Phytopath.*, **47**, 303.

Gäumann E. and Böhni E. (1947) — *Helv. Chim. Acta*, **30**, 24.

Graniti A. (1959) — *Ann. Fac. Agraria Univ. Bari*, XIII.

Heitefuss R., Stahmann M. A. and Walker J. C. (1960) — *Phitopath.*, **50**, 370.

Winstead N. N. and Walker J. C. (1954) — *Phytopath.*, **44**, 153.

Wood R. K. S. (1955) — *Ann. Botany (London)*, **19**, 1.

Wood R. K. S. (1960) — *Ann. Rev. Plant Phys.*, **11**, 299.

LA « MACCHIETTATURA BATTERICA » DA *PSEUDOMONAS TOMATO* (OKABE) BREED ET AL. SU POMODORO, IN SICILIA

G. MAJORANA

La « Macchiettatura batterica » dei frutti di Pomodoro da *Pseudomonas punctulans* è stata segnalata per la prima volta in Italia (Ciccarone e Mezzetti, 1950), in alcune zone pugliesi. In seguito è stato effettuato uno studio delle caratteristiche microbiologiche del parassita (Mezzetti, 1951), che veniva identificato come *Ps. punctulans* (Bryan) Dowson e quindi, dopo una comparazione con le descrizioni dei ceppi di *Ps. punctulans* studiati dalla Bryan e dal Reid e del ceppo di *Ps. tomato* studiato da Okabe, veniva posto in sinonimia con quest'ultima [*Ps. tomato* (Okabe) Breed et al.].

Questa batteriosi è stata successivamente osservata anche nella Pianura Padana, dove si presume sia presente almeno dal 1958 (Casarini, 1958).

Per quello che ci risulta, questa batteriosi non era stata ancora riportata in Sicilia, per cui ci sembra utile segnalarne la presenza in una delle zone dell' Isola più tipiche per la coltura del Pomodoro precoce per il consumo diretto, tanto più che il deprezzamento dei frutti, a seguito di infezioni di questo tipo, assume una rilevanza economica forse maggiore di quella sino ad oggi attribuita altrove.

La malattia è stata osservata nel Maggio del corrente anno nella zona di Milazzo, su frutti di Pomodoro della cv. « Nunhem' s tuckqueen », su una percentuale relativamente bassa del prodotto (5 % circa), pur se i sintomi risultavano diffusi in buona parte delle coltivazioni della zona.

Come è noto, i sintomi della malattia consistono in pustole nere, rotondeggianti, leggermente rilevate sulla superficie della bacca, crostiformi, di 1 - 1,5 mm. di diametro (ma talora confluenti in pustole di forma irregolare e di 2 - 3 mm. di diametro), circondante da un alone giallo solo al momento dell'invaiatura del frutto. (Fig. 1 e 2).

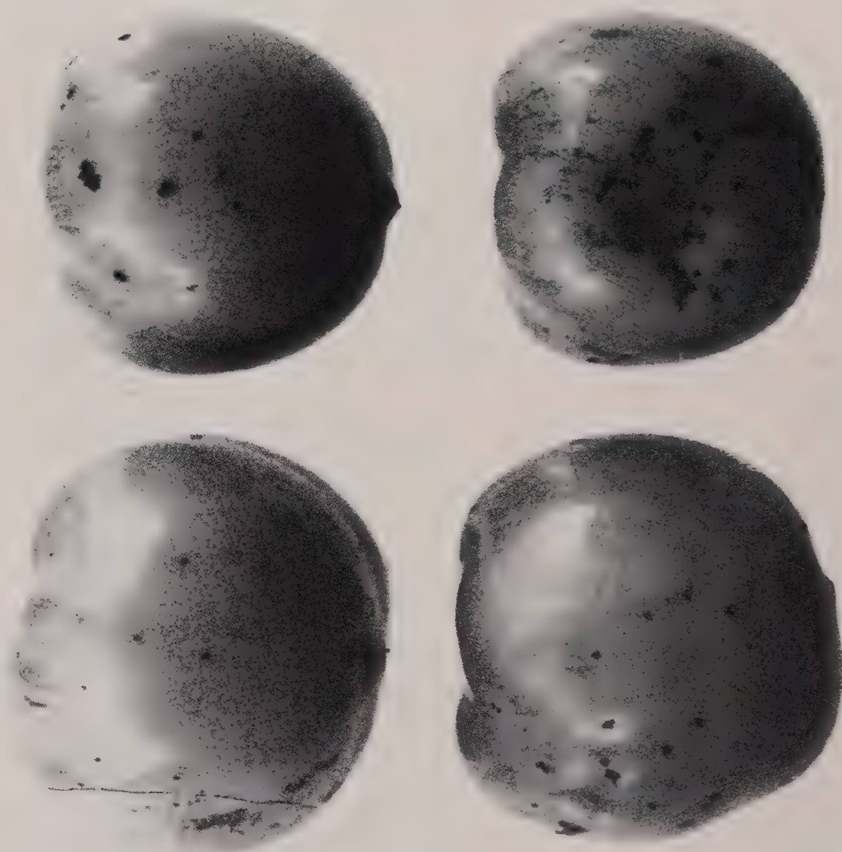


Fig. 1

Frutti di pomodoro della varietà “ Nunhem's tuckqueen „ con i sintomi della “ Macchiettatura batterica „



Fig. 2
Come alla Fig. 1

RIPRODUZIONE SPERIMENTALE DELLA MALATTIA

Con le comuni tecniche di laboratorio, dalle macchie tipiche sui frutti è stato facilmente isolato, su agar-patata, uno schizomicete che ha invariabilmente formato colonie di forma irregolare, a sviluppo rigoglioso, rilevate, traslucide, di colore bianco-crema.

Utilizzando trapianti di 48 ore di età provenienti da un'unica colonia, è stata effettuata una serie di inoculazioni su piante di Pomodoro di cultivar diverse allevate in fitocelle: « Pierrette », « Marglobe », « Super Sioux », « San Marzano », « Meraviglia dei mercati », « Rutgers ». L'inoculazione è stata effettuata strofinando con un batuffolo di cotone imbevuto di una densa sospensione di cellule batteriche in acqua distillata (secondo la tecnica suggerita da Bryan, 1933) i giovani frutti, i peduncoli di questi, le foglie e gli steli delle piante prescelte. Dette piante furono quindi mantenute per 48 ore sotto campane di vetro in ambiente saturo di umidità ed a temperatura ambiente (22° C. in media).

I sintomi della « Macchiettatura batterica » sono stati riprodotti in modo costante in tutte le ripetizioni (sono state utilizzate quattro piante per ciascuna cultivar) solo sui frutti della cv. « Super Sioux » e « Marglobe » (Fig. 3), sui quali i primi sintomi della malattia si sono resi visibili dopo soli 7 giorni dall'inoculazione.

Risultati meno costanti (riproduzione dei sintomi solo su alcuni frutti di ciascun grappolo) si sono avuti per la cv. « Meraviglia dei mercati ».

Sui frutti delle altre cultivar o sulle altre parti della pianta, l'inoculazione effettuata col metodo su indicato ha dato spesso risultati poco costanti.

Per quanto riguarda i sintomi sul rachide delle infruttescenze, occorre dire che macchie del tutto simili a quelle dei frutti sono state osservate in campo, ma non sono stati tentati degli isolamenti da tali macchie. D'altra parte, pur se non costantemente, macchie analoghe sono state riprodotte sperimentalmente sul rachide dei frutti, inoculando — come già detto — il batterio isolato da frutti ammalati.



Fig. 3
Sintomi di “ Macchiettatura batterica „ su frutto di Pomodoro della cv. “ Marglobe ,,, a 20 giorni dalla inoculazione artificiale

IDENTIFICAZIONE DELL' AGENTE PATOGENO

L'identificazione dello Schizomicete responsabile della malattia è stata effettuata attraverso una serie di indagini microbiologiche intese ad accertare le caratteristiche morfologiche e colturali e le proprietà fisiologiche dell'agente patogeno isolato da frutti ammalati.

Queste indagini sono state effettuate utilizzando otto colonie dello schizomicete, quattro delle quali provenivano da isolamenti ottenuti da un'unica lesione su un frutto di Pomodoro della cv. « Nunhem's tuckqueen » raccolto in campo, mentre le altre quattro provenivano da reisolamenti ottenuti da una lesione riprodotta sperimentalmente su un frutto di Pomodoro della cv. « Super Sioux ».

Tutte le prove sono state effettuate in termostato a 23° C. e con quattro ripetizioni ciascuna.

All'esame microscopico, colorando con carbometil violetto, le cellule batteriche (da una colonia su agar-patata, a 24 ore dal trapianto) risultano cilindriche, spesso isolate, talora accoppiate o a catenella, e delle dimensioni medie di μ 1,8 × 0,8.

I risultati delle prove colturali da noi eseguite possono così riassumersi:

1) *Su agar-decotto carne peptonato* (Dowson, 1949). Formazione di colonie irregolari, con un diametro di 0,8 cm. a 6 giorni dall'inoculazione. Alla stessa data, le colonie presentavano un margine esterno netto, leggermente ondulato, ed un secondo margine interno, concentrico al primo, delimitante una zona più lucida e più chiara al centro della colonia. Superficie delle colonie piatta e di colore bianco-grigiastro, lucido. Al microscopio, a 6 giorni dall'inoculazione, la superficie appariva liscia, a margine ondulato e di coloro giallo.

2) *Su agar-patata* (Ainsworth e Bisby, 1954). Colonie di forma irregolare. Vegetazione rigogliosa con margine netto ed appena ondulante, a superficie irregolare, rilevata, traslucida, di colore bianco-crema.

3) *In brodo-decotto carne peptonato* (Dowson, l. c.). Vegetazione discreta sotto forma di pellicola sottilissima e fragile, che ad ogni minima scossa prodotta nell'osservare le colture, facilmente si immerge nel substrato e precipita sul fondo della provetta. Formazione di sedimento vischioso con assenza di turbidità e pigmentazione.

4) *Su tasselli di patata* (Dowson, l. c.). Colonie di forma irregolare, leggermente rilevate, di aspetto cremoso, di consistenza viscida, inizialmente di colore chiaro, poi man mano tendente al giallo scuro e sempre più iscurentisi. Tasselli talora con leggera sfumatura scura e col solo becco di flauto iscurito, più spesso completamente imbruniti già a 6 giorni dall'inoculo.

5) *In liquido di Uschinsky* (Dop e Gautié, 1928) [1]. Vegetazione discreta, superficialmente ad anello aderente al vetro, con sedimento viscido e con assenza di turbidità. Produzione di pigmento verde chiaro già ben visibile alla superficie della coltura a 5 giorni dall'inoculazione.

6) *In liquido di Cohn* (Dop e Gautié, l. c.). Assenza di vegetazione. Si è potuto osservare soltanto un esiguo sedimento viscido (talora fioccoso) con assenza di turbidità e di pigmentazione, verosimilmente dovuto alle cellule batteriche usate per l'inoculazione.

Circa le prove intese ad accertare le caratteristiche fisiologiche e le proprietà biochimiche (2), i risultati possono così riassumersi:

1) *Reazione di Gram* (modificazione di Nyfeldt).
Gran negativo.

2) *Liquefazione della gelatina.* Su gelatina-decotto carne peptonato in provette ed in capsule Petri (Dowson, l. c.).
Liquefazione a forma di imbuto, molto rapida (per un diametro di 1,5 cm. in colture in capsule Petri, a 20 ore dall'inoculazione). Nessuna produzione di pigmento.

3) *Produzione di ammoniaca ed acido solfidrico.* Su brodo-decotto carne peptonato (Dowson, l. c.) ed in acqua peptonata (Dop e Gautié, l. c.). Determinazione della produzione di ammoniaca effettuata sospendendo cartine di tornasole rosa, al tappo delle provette di brodo-decotto carne peptonato e di acqua peptonata.
Si svolge ammoniaca, ma non idrogeno solforato.

4) *Idrolisi dell'amido.* Su agar-decotto carne peptonato più amido (Dowson, l. c.).
Assenza di idrolisi.

5) *Azione su latte tornasolato.* Su latte tornasolato (Dowson, l. c.). A trenta ore dall'inoculazione, leggera e temporanea colorazione blu di una zona superficiale del substrato. Riduzione del tornasole e peptonizzazione già ben visibile al quarto giorno e completa al decimo giorno. Al 30° giorno, il substrato si presenta piuttosto iscurito (colore rose taupe, n. 4-A, Tav. 16 del « Dizionario dei colori » di Maerz e Paul, 1950).

---

(1) In sostituzione dell'aspartato di potassio si è usata asparagina.

(2) Non si ritiene necessario dettagliare circa le tecniche usate, avendo fedelmente seguito quanto consigliato da Dowson (1949), ad esclusione delle indagini riguardanti al determinazione della produzione di ammoniaca ed indolo, e delle prove riguardanti la riduzione dei nitrati e la relazione con l'ossigeno, per le quali verrà espressamente specificata la tecnica adottata.

Assenza di coagulazione fino al 35° giorno.

6) *Azione sui composti di carbonio.* Carboidrati incorporati nel substrato basale consigliato dalla S.A.B. [1] (in Dowson, l. c.). Come indicatore di pH si è usato il bleu bromotimolo e la produzione di gas è stata determinata con tubi Durham.

Produzione di acidi già evidente dopo 48 ore da saccarosio, glucosio e mannosio, e dopo 4 giorni da glicerina. Fino al 10° giorno nessuna produzione di acidi da lattosio e maltosio.

Nessuna produzione di gas.

7) *Azione sui nitrati.* Nitrato di potassio incorporato nel substrato basale consigliato dalla S.A.B. (in Dowson, l. c.). Determinazione effettuata aggiungendo al substrato con nitrato di potassio alcune gocce di una soluzione di amido allo 0,5 % di ioduro di potassio e qualche goccia di acido solforico diluito.

Non riduce i nitrati.

8) *Produzione di indolo.* In acqua peptonata, preparata con peptone per batteriologia (Dop e Gautié, l. c.). Determinazione effettuata con la reazione di Salkowsky.

Non produce indolo.

9) *Relazioni con l'ossigeno.* Su agar nutritivo zuccherato e su agar patata (Ainsworth e Bisby, l. c.). Controllo biologico con *Corynebacterium* sp. (aerobio). Determinazione effettuata per inoculazione sui substrati solidificati in alto strato.

Anaerobio facoltativo.

CONCLUSIONI

Sulla base delle caratteristiche sintomatologiche, la malattia che abbiamo descritto è identificabile con quella nota col nome di « Macchiettatura batterica ». I risultati delle indagini microbiologiche effettuate consentono, inoltre, di identificare l'agente patogeno come *Pseudomonas tomato* (Okabe) Breed et al.

Le prove di riproduzione sperimentale della malattia su piante di Pomodoro di cultivar diverse sono del tutto inadeguate, data

(1) Society of American Bacteriologists.

l'esiguità delle replicazioni, per un'indicazione circa l'eventuale diversa suscettibilità di queste alla malattia. Riteniamo, pertanto, che tale indagine meriti di essere realizzata anche per questa batteriosi, analogamente alle altre più diffuse e localmente già note che affliggono il Pomodoro. Le nostre osservazioni, infatti, portano a concludere che, da qualche anno a questa parte, le infezioni di origine batterica sono in aumento nelle coltivazioni siciliane di Pomodoro. La presente segnalazione di infezioni da *Ps. tomato* avvalora ulteriormente questa constatazione, trattandosi di una malattia sino ad oggi non riscontrata in Sicilia, almeno in entità apprezzabile.

L'attuale diffusione della « Macchiettatura batterica » dei frutti di Pomodoro nel Milazzese, per quanto riscontrata in forme relativamente modeste, non può non preoccupare gli agricoltori, data la svalutazione del prodotto che — come è stato già detto — è destinato al consumo diretto.

Indipendentemente dalle ragioni che possono aver influito, da qualche tempo a questa parte, sull'incremento delle infezioni batteriche in genere, nelle coltivazioni siciliane di Pomodoro, si rende necessario attuare una migliore lotta contro queste malattie, lotta che andrà effettuata sia indirettamente, con opportune rotazioni, un'accurata scelta del seme ed una migliore difesa delle piante dalle altre malattie (ivi comprese anche le infestazioni da insetti), sia direttamente, con un'opportuna disinfezione del seme e con trattamenti specifici alle piante, con l'eventuale aggiunta di antibiotici ai normali trattamenti antiparassitari.

Istituto di Patologia Vegetale dell' Università di Catania.

RIASSUNTO

E' segnalata la presenza della « Macchiettatura batterica » dei frutti di Pomodoro [*Pseudomonas tomato* (Okabe) Breed et al.] su piante della cv. « Nunhem's tuckqueen », nella zona di Milazzo (Messina).

Dopo aver descritto brevemente la sintomatologia, si riportano i risultati delle inoculazioni artificiali su piante di 7 cultivar diverse di Pomodoro allevate in fitocelle, nonchè delle indagini microbiologiche effettuate per l'identificazione del patogeno.

SUMMARY

The « Bacterial speck » [Ps. tomato *(Okabe) Breed et al.*] *of Tomato, in Sicily*
by
G. Majorana

« Bacterial speck » infection on tomato fruits [*Ps. tomato* (Okabe) Breed et al.] of « Nunhem's tuckqueen » variety, in the area of Milazzo (Sicily), is reported.

Symptoms of the disease are briefly described and results of experimental infections on plants of 7 different tomato varieties are reported, together with the results of microbiological researches for the indentification of the pathogen.

LETTERATURA CITATA

Ainsworth G. C. and Bisby G. R. (1954) — *A dictionary of the fungi.* Fourth edition. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, 475 pp.

Bryan M. K. (1933) — Bacterial speck of tomatoes. *Phytopath.*, **23**, 11, 897-904.

Casarini B. (1958) — Difesa del Pomodoro in alta Italia. *Informat. Fitopat.*, **8**, 17, 294-304.

Ciccarone A. e Mezzetti A. (1950) — La « picchiettatura batterica del Pomodoro in Italia. *Not. Mal. Piante*, n. 10, 33.

Dop P. et Gautié (1928) — *Manuel de Technique botanique.* Deuxième édition. J. Lamarre, Paris, 594 pp.

Dowson W. J. (1949) — *Manual of bacterial plant diseases.* A. e C. Black, London, 183 pp.

Maerz A. and Paul M. R. (1950) — *A dictionary of color.* Second edition. Mc Graw - Hill Book Company, Inc., New York - Toronto - London, 208 pp.

Mezzetti A. (1951) — La « macchiettatura batterica » dei frutti di Pomodoro prodotta dallo *Pseudomonas tomato* (Okabe) Breed et al. *Ann. Sper. Agr.*, N. S., **5**, 1, 95-110.

Nagel C. M. (1944) — A new organic fungicide, 2,3-dichloro-1,4-naphthoquinone: its value as a control for certain defoliation diseases of the tomato. *Phytopath.*, **34**, 12, 1009 (Abs.).

Okabe N. (1953) — Bacterial diseases of plants occurring in Formosa. II. *Journ. Soc. Trip. Agric.*, **5**, 26-36 (in R.A.M., **12**, 554-55, 1933).